

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

LE VIRUS SYPHILITIQUE COMPORTE-T-IL UN CYCLE ÉVOLUTIF DONT LE *TREPONEMA PALLIDUM* N'EST QU'UNE DES PHASES CONNUES ?

par C. LEVADITI

en collaboration avec

M^{lle} R. SCHOEN
(partie histologique).

et M. V. SANCHIS-BAYARRI
(partie expérimentale).

Dans une communication faite à la séance du 28 juillet 1927 à l'Académie de Médecine (1), nous avons exposé succinctement les arguments d'ordre expérimental et histologique nous ayant conduit à admettre que le *Treponema pallidum* comporte un cycle évolutif complexe, dont la forme spirochétienne n'est qu'une des phases connues. Nous désirons relater dans le présent Mémoire les détails de nos recherches poursuivies depuis près de deux ans. Si ces recherches ne résolvent pas entièrement le problème, du moins constituent-elles, à notre avis, un intéressant progrès et offrent-elles l'avantage de susciter de nouvelles investigations.

(1) LEVADITI, M^{lle} SCHOEN et M. V. SANCHIS-BAYARRI. *Bulletin Acad. de Médecine*, 98, n^o 30, 1927, p. 149.

*
* *

On sait, depuis les découvertes de Schaudinn et Hoffmann (1), que le *Treponema pallidum* pénètre dans les ganglions lymphatiques satellites du syphilome primaire chez l'homme, et que la ponction ganglionnaire permet de l'y déceler avec une fréquence variable suivant les auteurs (de 40 à 96 p. 100). Ainsi Droop (2) le découvre dans 76 p. 100, Frühwald (3) dans 83 p. 100, Ziegler (4) dans 84,2 p. 100, Quattrini (5) dans 88 p. 100, Habermann et Mauelshagen (6) dans 90 p. 100, Tilling dans 96 p. 100 des cas examinés, pour ne citer que quelques-uns des chercheurs ayant étudié récemment la question (7). La diversité des résultats obtenus tient, sans aucun doute, à la plus ou moins grande perfection des techniques utilisées et à la période de la maladie où les examens ont été pratiqués.

Ainsi Podesta (8), se servant de l'ultramicroscope et du procédé de Fontana, fait les constatations suivantes : sur un total de 52 syphilitiques observés pendant la seconde période d'incubation précédant l'apparition des manifestations secondaires, les spirochètes furent décelés, dix fois simultanément dans le syphilome et les ganglions, et onze fois exclusivement dans les glandes inguinales, soit, au total, dans 40 p. 100 des cas.

*
* *

Il n'en est pas de même de la présence du tréponème dans les ganglions lymphatiques inguinaux ou poplités des lapins porteurs de syphilomes scrotaux à virus Truffi, Nichols ou

(1) SCHAUDINN et HOFFMANN. *Deut. med. Woch.*, **31**, n° 18, 1905, p. 711.

(2) DROOP. *Dermatol. Zeitschr.*, **41**, 1921, p. 336.

(3) FRÜHWALD. *Wien. klin. Woch.*, **33**, n° 46, 1920, p. 999.

(4) ZIEGLER. *Med. Klinik*, **17**, n° 11, 1921, p. 318.

(5) QUATTRINI. *Boll. Soc. Med.*, Pavia, 1922.

(6) HABERMANN et MAUELSHAGEN. *Deut. med. Woch.*, **45**, n° 21, 1919, p. 574; MAUELSHAGEN. *Inaug. Diss. Bonn*, 1920 ; 80 à 90 p. 100 résultats positifs.

(7) Il y a lieu de citer, parmi les anciens auteurs : BAYET. *Bull. de la Soc. Roy. des Sciences méd. de Bruxelles*, n° 25, 1905, p. 100 ; ROSCHER. *Berl. klin. Woch.*, n° 44, 1905, p. 1382 (30 résultats positifs sur 38 examens) ; NICOLAS, FAVRE et ANDRÉ, *Lyon médical*, 1^{er} octobre 1905 ; THIBIERGE, RAVAUT et LESOURD. *Bull. Soc. méd. Hôpitaux*, **23**, 6 avril 1906, p. 383 (3 résultats positifs sur 13 examens).

(8) PODESTA. *Policlínico, Sez. pratica*, **30**, 1923, p. 273.

Kuznitzky. Déjà Truffi (1), après avoir établi, en collaboration avec Ossola (2), la virulence presque constante de ces ganglions, remarque qu'elle contraste avec l'absence de spirochètes dans le tissu lymphatique dont l'inoculation avait été suivie de succès. Le savant italien commence par établir que les ganglions satellites du chancre expérimental sont virulents de très bonne heure. Le « virus syphilitique », dit-il, les envahit déjà cinq à douze jours après la greffe tréponémique. Truffi précède ainsi Kolle et Evers (3), lesquels démontrent, à leur tour, cet envahissement rapide [trente minutes (4)], et confirment les recherches plus anciennes, faites sur le singe, par Neisser, Baermann et Haberstädter (5). Truffi ajoute : « Dans aucun de mes cas je n'ai réussi à mettre en évidence, ni par l'examen à l'ultramicroscope, ni après imprégnation à l'argent, la présence du spirochète pâle dans les ganglions lymphatiques ayant servi à l'inoculation. La constatation de spirochètes dans les glandes lymphatiques des lapins, relatée pour la première fois par Ossola (6), n'est donc pas un fait constant ». Truffi rappelle que Uhlenhuth et Mulzer n'ont décelé le tréponème qu'une seule fois sur de nombreux examens, et que, suivant Mülhens, cette absence du microbe peut coexister avec la présence du virus syphilitique, démontrée par les inoculations d'épreuve. L'auteur italien cite également les recherches de Tomaszewsky, lequel découvre de très rares tréponèmes chez 7 parmi les 21 sujets syphilitisés, mais ne réussit pas à les mettre en évidence dans 6 autres cas, malgré l'infectiosité du tissu lymphoïde.

Le même fait, en apparence paradoxal, est mentionné par Brown et Pearce (7). Dans un premier travail datant de 1921, ces auteurs affirment que, chez 6 lapins syphilitisés, il leur fut impossible de constater le *Treponema pallidum* dans les gan-

(1) TRUFFI. *Pathologica*, n° 110, 1913, p. 316.

(2) TRUFFI et OSSOLA. *Società Medica Pavese*, séance 7 mai 1909.

(3) KOLLE et EVERS. *Deutsche med. Woch.*, n° 26, 1926, p. 1075.

(4) Dans l'intervalle, Brown et Pearce (*Journ. of exper. Med.*, 35, 1922, p. 39) avaient déjà prouvé que les ganglions sont infectieux déjà deux jours après l'inoculation scrotale.

(5) NEISSER. *Die experimentelle Syphilisforschung*, 1906.

(6) OSSOLA. *Società ital. de Dermatologia*, 1908.

(7) BROWN et PEARCE. *Amer. Journ. of Syphilis*, 5, 1921, p. 1 ; *Journ. of exper. Med.*, 35, 1922, p. 39.

glions poplités, et cependant ces ganglions contenaient du virus. Dans un second Mémoire de 1922, les savants américains constatent « qu'il y a un contraste frappant entre l'infectiosité des émulsions ganglionnaires et le petit nombre de spirochètes présents dans ces ganglions, puisque ces spirochètes n'ont été vus à l'ultramicroscope que trois fois sur 29 examens ». Voici, d'ailleurs, un des protocoles des expériences de Brown et Pearce :

CAS	EXAMEN A L'ULTRA	INOCULATIONS positives	INCUBATION
6	1 positif.	8	15 à 41 jours.
6	2 positifs.	8	28 à 35 jours.
10	Négatif.	18	25 à 39 jours.
7	Négatif.	12	24 à 36 jours.
29	3 +	46	

Les ganglions inguinaux ont été excisés de seize à soixante et un jours après l'inoculation scrotale. D'après Ebersson et Engmann (1), les ganglions humains peuvent, eux aussi, être virulents, en l'absence de spirochètes. Ces observateurs examinent à l'ultramicroscope les glandes lymphatiques inguinales de trois malades syphilitiques et ne découvrent le tréponème que dans un seul de ces ganglions; toutefois, l'inoculation au lapin fut, dans les trois cas, suivie de succès, après une incubation variant de cinquante-quatre à cent trente-trois jours.

*
* *

Nous avons révélé le même contraste entre la virulence des ganglions poplités des lapins syphilitisés expérimentalement (souche Truffi) et l'absence de tréponèmes dans ces ganglions. Cette virulence apparaissait à l'occasion de nos essais faits en vue d'établir l'efficacité curative et préventive du tellure et du bismuth (2), essais qui comportaient un assez grand nombre d'animaux témoins. Nous nous attendions à ce que la présence

(1) EBERSSON et ENGMANN. *Journ. amer. med. Assoc.*, 71, 1921, p. 160.

(2) LEVADITI. *C. R. Académie des Sciences*, 184, 1921, p. 783; LEVADITI, SANCHIS-BAYARRI, SCHOEN et MANIN. *Ces Annales*, 42, 1928, p. 105.

du virus syphilitique dans les glandes lymphatiques coexistât avec la présence de tréponèmes dans le tissu lymphoïde, décelables soit par l'examen à l'ultramicroscope, soit par l'imprégnation argentique sur coupes. N'avions-nous pas trouvé, avec Manouélian (1), dans les ganglions sous-maxillaires du chimpanzé et des simiens inférieurs, des spirochètes imprégnables par l'argent (technique de Levaditi et Manouélian), « de préférence autour des vaisseaux et dans le stroma des follicules » ? Or, cette fois-ci nous n'avons enregistré que des résultats négatifs.

TECHNIQUE. — Les ganglions poplités des lapins porteurs de syphilomes scrotaux d'âge variable, ou en état d'infection spécifique latente, ont été examinés soit à l'ultramicroscope, soit sur frotlis (procédé de Fontana-Tribondeau), soit, enfin, sur coupes [technique de Levaditi, de Levaditi et Manouélian et principalement celle de Strempel-Armuzzi (2)]. Un très grand nombre de coupes, imprégnées d'après ces procédés, étaient patiemment examinées. Afin de provoquer un enrichissement spirochétien des ganglions, ceux-ci ont été parfois placés dans le milieu de Schereschewsky (sérum de lapin demi-coagulé). Par ailleurs, nous avons soin de réaliser des cultures de cellules ganglionnaires *in vitro*, en utilisant, comme milieu, le plasma de poule. Dans ces conditions, les fibroblastes du tissu lymphoïde montraient une riche pullulation, se comportant, de ce point de vue, comme les fibroblastes du chancre tréponémique du lapin (3).

RÉSULTATS.

PREMIÈRE SÉRIE. — *Ganglions dont la virulence a été éprouvée par inoculation sous-scrotaie.*

Nous résumons dans le tableau ci-après une partie de nos observations concernant cette première catégorie d'essais (Cf. Tableau I, p. 480).

Nombre des animaux porteurs de chancres scrotaux : 11. Âge du chancre : soixante-huit, soixante-treize, soixante-dix-neuf, cent cinq, cent vingt-huit et cent quarante-huit jours.

(1) Dans LEVADITI et ROCHÉ : *La syphilis, expérimentation, diagnostic*, Paris, Masson, 1909. Une figure est représentée à la page 364.

(2) STREMPER et ARMUZZI. *Arch. f. Dermatol. und Syphilis*, 49, 1925, p. 370. Cette méthode nous a donné les meilleurs résultats, tant du point de vue de la topographie et du nombre des tréponèmes, qu'en ce qui concerne l'aspect cytologique.

(3) Cf. LEVADITI et M^{lle} SCHOEN. Rapport au Congrès de Zoologie de Budapest, septembre 1927.

TABLEAU I.

NUMÉRO du lapin donneur	CHANCRE			GANGLIONS POPLITÉS		
	Age	Spirochètes		Ultra	Str.-Arm. (1)	Lev.-Jahn. (1)
		Ultra	Ag			
	jours					
148 Z.	68	++++	++++	0	0?	—
776 N.	105	++++	++++	0	0	—
624 N.	128	++++	++++	0	0	—
911 D.	73	++++	++++	0	0	0
914 D.	73	++++	++++	0	0	0
916 D.	73	++++	++++	0	0	0
917 D.	73	++++	++++	0	0	0
922 D.	73	++++	++++	0	0	0
403 D.	79	++++	++++	0	—	—
380 D.	79	++++	++++	0	0	—
740 D.	148	++++	++++	—	0	0

NUMÉRO des lapins greffés	GREFFONS			
	Age	Spirochètes		
		Ultra	Str.-Arm. (1)	Lev.-Jahn. (1)
	jours			
557 Z.	40	0	0	—
556 Z.	43	0	0	—
553 Z.	56	++	+	—
562 Z.	64	++++	+	—
554 Z.	76	++++	—	—
368 N.	53	++	++	++
369 N.	53	0	0	0
370 N.	53	++++	+++	+++
366 N.	53	++++	—	—
367 N.	53	++++	+	+
375 N.	53	0	0	0
377 N.	53	++++	++++	++++
778 N.	53	++++	++++	++++
371 N.	53	0	0	0
373 N.	47	++	++++	+++
743 D.	82	++++	—	—
744 D.	109	++++	—	—
719 D.	109	++++	—	—
711 D.	130	0	—	—
740 D.	117	++++	—	—
740 D.	90	++++	—	—
381 N.	53	++++	++	—
382 N.	59	++++	+++	+++
380 N.	80	++++	+++	+++

(1) Str.-Arm. : technique de Strempel et Armuzzi ; Lev.-Jahn. ; technique de Levaditi-Jahnel.

24 inoculations de ganglions ont fourni 18 résultats positifs, soit un pourcentage de succès égal à 67 p. 100 (1).

DEUXIÈME SÉRIE. — *Ganglions dont la virulence n'a pas été éprouvée* (mais qui, d'après les expériences résumées ci-dessus et celles des auteurs qui nous ont précédé, devaient contenir le virus syphilitique).

(Cf. Tableau II, page 481).

TABLEAU II.

NUMÉRO du lapin donneur	CHANCRE				GANGLIONS			
	Spirochètes				Spirochètes			
	Age	Ultra	S.-A.	L.-M. (1)	Ultra	S.-A.	L.-M.	L.
	jours							
895 D	116	+++++	+++	—	0	0	0	0
927 D	72	+++++	—	—	0	0	0	0
898 D	116	+++++	—	—	—	0	0	0
909 D	92	+++	—	—	0	0	0	0
923 D	92	+++++	+++	—	0	0	0	0
423 D	28	+++	+++++	++	—	0	0	0
152 N	75	+++	—	—	—	0	0	0
153 N	75	+++	—	—	0	0	0	0
159 N	75	+++	—	—	—	0	0	0
93 A	107	+++	++	++	—	0	0	—
370 N	53	++	+++++	+++++	—	0	0	—
373 N	48	++++	+++++	+++++	0	0	0	—
777 N	53	+++++	+++++	+++++	—	0	0	—
378 N	53	+++	+++	++	—	0	0	—
381 N	53	+++++	+++++	++	—	0	0	—
382 N	59	+++++	++	++	—	0	0	—
778 N	41	+++	+++++	—	0	0	—	—
718 D	184	+++++	—	—	0	0	—	—
716 D	184	++ (2)	—	—	—	0	—	—
776 N	105	+++++	—	—	0	0	—	—
624 N	128	+++	—	—	0	0	—	—
148 Z. . . .	68	+++	—	—	0	1 seul trépon. (?)		
Nombre des animaux porteurs de chancres scrotaux : 22.								
Age du chancre : 28, 41, 53, 59, 75, 107, 116 et 184 jours (2).								
(1) Technique de Levaditi et Manouélian.								
(2) Les ganglions des lapins 718 et 716 D ont été examinés alors que la lésion locale était guérie.								

Nous avons examiné, au total, 33 ganglions poplités (2).

(1) Ce pourcentage est inférieur à celui qu'aurait fourni ces expériences si tous nos animaux inoculés avaient vécu un temps suffisamment long ; quelques-uns sont, en effet, morts en deçà de la durée habituelle de la période d'incubation.

(2) Ce chiffre ne se rapporte qu'aux ganglions provenant des animaux cités

Constatations — a) EXAMEN DES GANGLIONS POPLITÉS. — Malgré l'examen approfondi de nombreux frottis et coupes (pour le moins une dizaine pour chaque pièce), il nous a été impossible de déceler dans ces 33 ganglions des tréponèmes typiques, ni même des lésions manifestes d'adénite ou de périadénite. Nous n'avons constaté, à deux ou tout au plus trois reprises, que des formes filamenteuses, à ondulations irrégulières, d'ailleurs extrêmement rares, et dont il était difficile d'affirmer la nature tréponémique. Nous reproduisons dans la *Planche III* une de ces formes suspectes (*Cf.* fig. 3). Et, cependant, la plupart de ces ganglions contenaient le virus syphilitique, puisque, ainsi que nous venons de le constater, sur 24 inoculations, au moins 67 p. 100 ont été suivies de succès. Quelles qu'aient été les modifications apportées aux techniques en vue de favoriser une pullulation des tréponèmes après l'excision des glandes poplitées, milieu de Scherescheswky ou cultures cellulaires *in vitro*, les résultats n'ont pas varié : ils ont été constamment négatifs.

Il en résulte que *malgré la virulence fréquente des ganglions lymphatiques provenant de lapins syphilitisés, examinés pendant la période active de la maladie, ou au cours de la tréponémose « inapparente », le TREPONEMA PALLIDUM ne peut être décelé dans ces ganglions que tout à fait exceptionnellement*, quel que soit le moment où l'on pratique l'examen et les méthodes utilisées. Nos constatations sont donc en parfait accord avec celles des auteurs qui nous ont précédé (Truffi, Brown et Pearce). Si des observateurs tels que Zurhelle (1) et Hoffmann et Armuzzi (2) ont découvert des tréponèmes soit sur coupes, soit à l'ultra-microscope, c'est qu'il s'agissait de constatations exceptionnelles, ne modifiant en rien les conclusions auxquelles ont abouti nos nombreuses observations microscopiques.

b) EXAMEN DES GREFFONS. — L'étude microscopique des greffons, pratiquée après l'inoculation des ganglions sous le scrotum des lapins, permet de distinguer deux phases :

dans les tableaux I et II. En réalité, nous avons examiné un nombre bien supérieur à celui-ci.

(1) ZURHELLE, cité d'après Hoffmann.

(2) HOFFMANN et ARMUZZI. *Deut. med. Woch.*, n° 2, 1927, p. 51.

1° *Phase pré-spirochétienne*. — Au cours de cette première phase, qui cesse lorsque le greffon devient palpable, dur et adhérent, on constate que la survivance du tissu lymphoïde est liée à l'apparition de vaisseaux de nouvelle formation. Aucun envahissement par les polynucléaires ne précède cette

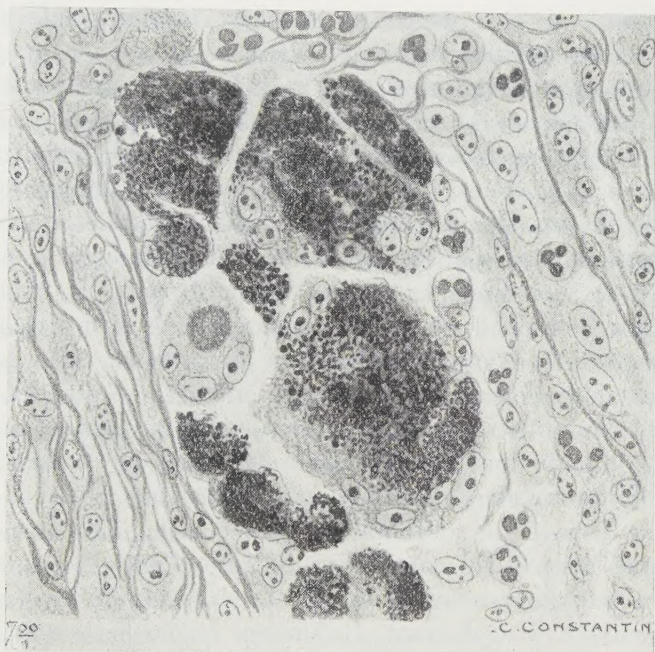


FIG. 1. — Lapin 557 Z. Grefion de ganglion âgé de 30 jours. Cellules géantes contenant des granulations argentophiles. Tout autour, de rares polynucléaires et du tissu lymphatique. Méthode de Strempel-Armuzzi. Gross. : 400/1.

vascularisation, comme il arrive dans la greffe effectuée avec des fragments de syphilome [nos propres observations et celles relatées récemment par Strempel et Armuzzi (1)]. On remarque également l'apparition de *cellules géantes* et d'*éléments granulo-adipeux* contenant du pigment imprégnable par l'argent, et, parfois, une nécrose centrale du tissu greffé (cf. fig. 1).

Malgré un examen attentif des coupes, nous n'avons pu découvrir, pendant toute la durée de cette phase, des trépo-

(1) STREMPER et ARMUZZI. *Dermatol. Zeitschr.*, 46, 1926, p. 267.

nèmes typiques, ni même des vestiges pouvant être rapprochés des formes spirochéliennes du virus syphilitique. Nous avons, çà et là, constaté des granulations argentophiles, la plupart incluses dans le cytoplasma des cellules fixes, mais il nous a été impossible d'établir la moindre relation morphologique entre ces granulations et les formes involutives du tréponème.

En tout cas, rien de ce qui se passe pendant cette phase pré-spirochélienne n'est comparable à ce qui a lieu lorsqu'on greffe, chez un animal neuf, des fragments de tissus contenant des spirochètes, tels la cornée atteinte de kératite tréponémique expérimentale, ou le syphilome scrotal. Dans ces conditions, on suit pas à pas l'envahissement des tissus voisins par le tréponème, sa persistance pendant toute la durée de la période d'incubation et sa pullulation lentement progressive. Ainsi, Levaditi et Yamanouchi (1) ont introduit dans la chambre antérieure de l'œil du lapin des fragments de cornée riche en tréponèmes et ont étudié l'évolution des lésions, ainsi que le sort des spirochètes. Ces recherches ont montré qu'à chaque instant, pendant les trente ou quarante-cinq jours que dure la période d'incubation, il est possible de déceler des spirochètes typiques, tout d'abord au niveau du fragment greffé, ensuite dans la cornée de l'animal en expérience. Les parasites pénètrent dans cette cornée et s'y multiplient activement, longtemps avant que les signes de kératite puissent se révéler cliniquement [Cf. également Hoffmann et Zurhelle (2)]. Ces données et d'autres constatations, recueillies grâce à des expériences réalisées sur le chimpanzé (3), nous ont permis de conclure que *la période d'incubation s'explique par les difficultés que rencontrent les tréponèmes à s'acclimater à de nouvelles conditions de vie et de nutrition* (4). Tout récemment, Strempel et Armuzzi (5) ont repris l'étude de cette question, en s'adressant aux greffes de syphilome tréponémique de lapin, qu'ils ont examinées à des moments divers de la période de l'incubation. Ils ont constaté la progression rapide des spirochètes vers les

(1) LEVADITI et YAMANOUCHI. *C. R. Soc. Biol.*, 64, 1908, p. 50.

(2) HOFFMANN et ZURHELLE, cités par Hoffmann. *Dermatol. Zeit.*, 46, 1926, p. 288.

(3) LEVADITI et YAMANOUCHI. *C. R. Soc. Biol.*, 64, 1908, p. 313.

(4) LEVADITI. *La Syphilis*. Paris, Masson, 1909, p. 368.

(5) STREMPER et ARMUZZI. *Dermatol. Zeit.*, 46, 1926, p. 267.

tissus avoisinants le long des espaces lymphatiques, leur pullulation, ainsi que la genèse des altérations caractéristiques du chancre incipient. A aucun moment les auteurs n'ont remarqué une interruption quelconque dans la multiplication du germe, ni même ce ralentissement du début observé par Levaditi et Yamanouchi.

On saisit facilement le contraste entre ces constatations et celles que nous avons recueillies au cours de nos études sur le sort du greffon ganglionnaire. Ici, absence totale de tréponèmes pendant la première phase du processus; là, au contraire, présence constante de spirochètes et pullulation lente mais progressive du microbe spiralé.

2° *Phase tréponémique.* — A partir du quarante-cinquième jour (en moyenne), le greffon change d'aspect. La structure lymphoïde est remplacée, petit à petit, par un tissu riche en fibroblastes, en fibrilles conjonctives, en vaisseaux néoformés (bourgeons vasculaires), autour desquels s'accumulent des monocytes (lymphocytes et cellules plasmatiques), bref par un tissu rappelant la cytologie du syphilome incipient. Au surplus, les éléments giganto-cellulaires abondent, surtout à la périphérie du nodule. Mais, ce qui frappe par-dessus tout, c'est l'extrême abondance des tréponèmes.

Nous avons représenté dans la *Planche III* l'aspect et la topographie des spirochètes au cours de cette deuxième période évolutive des greffons âgés de quarante-sept à cinquante-trois jours.

a) *Rapports avec les grosses cellules géantes.* — Les figures 5, 6 et 8 de la *Planche III* représentent de volumineuses cellules géantes contenant parfois 40 noyaux arrondis et vésiculeux, et dont le cytoplasma montre une structure en réseau filamenteux. Ces cellules géantes sont entourées de très nombreux tréponèmes à ondulations régulières et serrées, teints en jaune clair par la méthode de Strempel-Armuzzi. Mais d'autres spirochètes sont inclus dans le protoplasma; il s'agit, soit de parasites ayant conservé leur aspect caractéristique, mais se colorant en brun noirâtre, soit de spirochètes profondément déformés. Ces derniers revêtent l'aspect de virgules, de points d'interrogation, de boucles, de granulations rondes ou irrégulières (fig. 3, 9 et 10).

b) *Rapports avec les petites cellules géantes.* — D'autres cel-

lules géantes sont d'un volume manifestement plus réduit, telles les cellules représentées par les figures 2, 3, 4, 9 et 10. Ici, les noyaux varient de trois (fig. 2) à six (fig. 4), le cytoplasma est infiniment plus restreint. Entourées de tréponèmes régulièrement ondulés, ces petites cellules géantes ne contiennent que des spirochètes ayant perdu leur aspect caractéristique. La figure 9 en est un exemple. Les formes spirochétiennes intra-

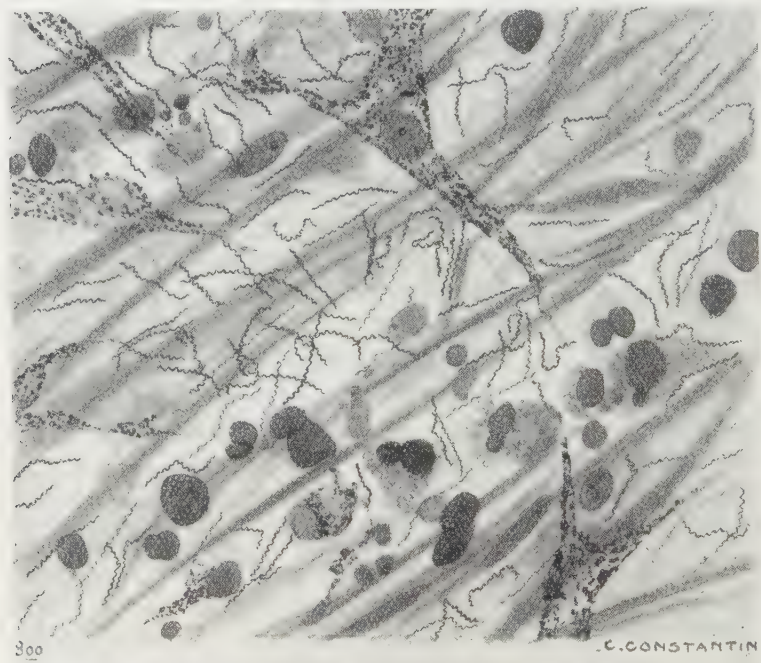


FIG 2. — *Lapin 357 Z. Greffon de ganglion âgé de 73 jours.* Très nombreux tréponèmes au milieu de fibrilles conjonctives, de lymphocytes, de cellules plasmatiques et de fibroblastes argyrophiles. Même méthode Gross.: 800/1.

protoplasmiques offrent une variabilité véritablement surprenante. On saisit tous les stades de transition entre les tréponèmes typiques et les boucles, ainsi que les granulations noires, d'un diamètre de $0\ \mu\ 2$ à $0\ \mu\ 3$, représentant la phase ultime, encore visible, de ce processus involutif.

c) *Rapports avec les fibroblastes.* — La figure 7 représente l'aspect des parasites dans un fibroblaste appartenant à un

greffon de quarante-sept jours. Plus un seul spirochète typique dans le cytoplasma. Tous les tréponèmes, disposés parallèlement aux fibrilles, ont l'aspect de filaments moniliformes, de massues, de virgules, de boucles en 8 ou en O, enfin de granulations presque ultramicroscopiques.

d) *Rapport avec l'ensemble du tissu syphilomateux.* — La figure 14 rend compte de l'abondance des tréponèmes dans les zones du greffon ayant revêtu l'aspect microscopique d'un syphilome au début. *Le tissu, constitué par des fibroblastes,*

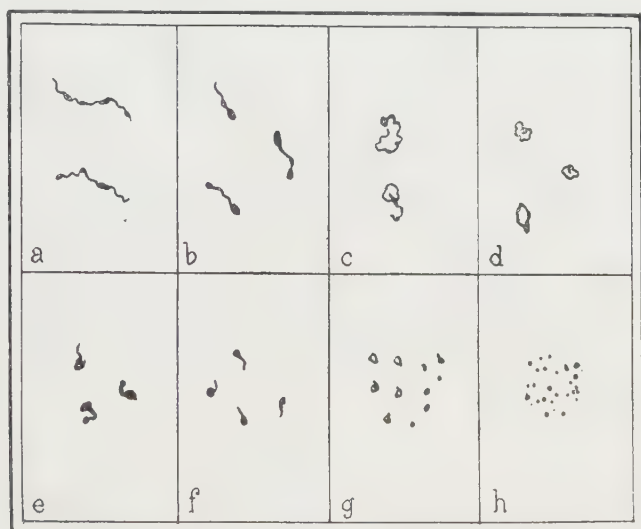


FIG. 3. — Aspect schématique de diverses formes involutives du *Treponema pallidum*. Grosse. : 4.000/1.

des lymphocytes, des cellules plasmiques ou des gros mononucléaires, est littéralement farci de spirochètes. Ceux-ci sont disposés surtout autour et à l'intérieur des fibroblastes, qu'ils encadrent littéralement, et aussi au niveau des endothéliums vasculaires, qu'ils traversent pour pénétrer dans la lumière des capillaires néoformés (Cf. fig. 2, p. 486).

En résumé, quels que soient la région du greffon prise en considération et ses éléments constitutifs, cellules géantes, fibroblastes, endothéliums, plasmocytes ou lymphocytes, les tréponèmes constatés peuvent être groupés en deux catégories :

a) *Spirochètes* ayant conservé leur aspect caractéristique, leurs ondulations régulières, leurs extrémités effilées, leurs affinités argentophiles;

b) *Tréponèmes* montrant toute une série de modifications morphologiques et tinctoriales, qu'il nous faut examiner en détail :

Ces tréponèmes déformés, atypiques, sont, pour la plupart, inclus dans le cytoplasma des cellules géantes, des fibroblastes et des macrophages. Ils se distinguent d'abord par le fait qu'ils se colorent en noir, alors que l'imprégnation argentique teint en jaune-brun les spirochètes typiques extra-cellulaires (voy. *Planche III*). (Méthodes de Stempel-Armuzzi et de Levaditi). Par ailleurs, leur forme permet de les classer schématiquement en huit variétés, dont voici les caractéristiques (*Cf.* figure 3, p. 487).

Groupe 1 : Spirochètes moniliformes. — Le parasite est filamenteux, ses ondulations sont aplaties, et il offre, çà et là, des renflements (2 à 3), disposés soit aux extrémités, soit le long du corps microbien (*a*).

Groupe 2 : Sp. en massue ou en haltères. — Le tréponème est raccourci et montre un ou deux renflements terminaux (*b*).

Groupe 3 : Sp. en boucles lâches ou incomplètement fermées (*c*).

Groupe 4 : Sp. en boucles serrées et complètement fermées (*d*).

Groupe 5 : Sp. en pelotes compactes (*e*).

Groupe 6 : Sp. en forme de virgule ou de point d'interrogation. — De très petites dimensions ($1\ \mu$), ces formes ont l'aspect d'une granulation irrégulière sur laquelle est attaché un court filament (*f*).

Groupe 7 : Sp. à l'état de granulations. — Ces granulations de $0,3\ \mu$ à $0,4\ \mu$ sont fortement colorées en noir; elles sont irrégulières, rondes ou légèrement ovalaires (*g*).

Groupe 8 : Sp. à l'état de granulations presque ultramicroscopique (*h*).

L'examen synthétique de ces différentes formes nous autorise à les considérer comme des phases successives d'un processus involutif, aboutissant au stade ultime, granulaire et presque ultramicroscopique, du parasite de la syphilis.

Nous reviendrons ultérieurement sur la signification de ce processus.

Concluons, pour l'instant, que l'inoculation sous-scrotale de ganglions lymphatiques provenant de lapins syphilités, ganglions virulents, mais apparemment dépourvus de tréponèmes, provoque l'éclosion d'un nodule d'aspect syphilomateux, extrêmement riche en parasites spiralés, ou en voie d'involution. Simultanément, la structure lympho-réticulaire du greffon change d'aspect. Dès que les spirochètes apparaissent, le tissu, jusqu'alors lymphoïde, revêt l'apparence d'un syphilome riche en fibroblastes, en monocytes et en cellules géantes.

..

Quelle interprétation convient-il de donner à ces constatations ? Deux hypothèses peuvent être formulées. On peut admettre que les ganglions poplités des lapins syphilités ne sont dépourvus de tréponèmes qu'en apparence ; le nombre des parasites spiralés serait si restreint qu'ils échapperaient à nos moyens d'investigation. Devant des observations analogues aux nôtres, Truffi s'est posé la même question. Il se montre, d'ailleurs, très enclin à admettre cette hypothèse, pour la raison que les ganglions examinés par lui provenaient d'animaux dont l'infection syphilitique était récente ; les tréponèmes pouvaient donc être présents en si petit nombre qu'il devenait difficile, voire même impossible, de les y déceler.

A cela on peut objecter que nos examens ont été si nombreux, si minutieux, qu'il eût été surprenant de ne point découvrir quelques rares tréponèmes typiques, si réellement il y en avait eu. D'autre part, ces examens ont porté sur des glandes lymphatiques de lapins dont l'âge du chancre a varié de vingt-huit à cent quatre-vingt-quatre jours, par conséquent, dans des conditions particulièrement favorables à la pullulation du *Treponema pallidum* dans ces ganglions. Enfin, nous aurions dû observer, dès le début, une multiplication tréponémique d'abord très faible, puis de plus en plus marquée, et non pas cette pullulation brusque, quasi massive, maintes fois constatée au cours de nos recherches.

Il nous semble, au contraire, plus plausible d'admettre que le tréponème n'est qu'une des phases du cycle évolutif du virus syphilitique. Ce cycle doit comporter d'autres formes invisibles

ou difficiles à déterminer par nos moyens actuels, celles précisément que paraît revêtir le virus dans les ganglions lymphatiques des lapins syphilités.

Ce qui nous le fait admettre, c'est qu'en réalité nous avons constaté, soit dans les greffons de ganglions examinés à la seconde phase spirochétienne de leur évolution, soit dans des syphilomes en voie de guérison spontanée, soit, enfin, dans des

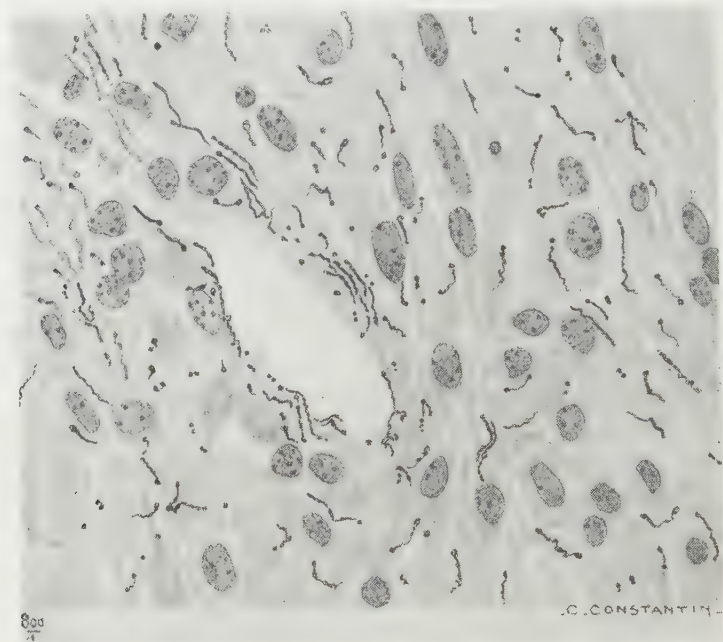


FIG. 4. — Lapin 494 Z. Syphilome scrotal à virus Truffi, traité par le dérivé arsénobismuthique solubilisé H²¹. Formes spirochétienne involutive extracellulaire. Même méthode. Gross. : 800/1.

chancres d'animaux traités (*As*, *Bi* ou *Te*), des tréponèmes inclus dans le cytoplasma des macrophages, des cellules géantes ou des fibroblastes, offrant tous les stades d'un processus involutif aboutissant à la formation de granulations argentophiles. Nous avons décrit ces différentes phases lorsque nous avons analysé les particularités microscopiques des greffons ganglionnaires (v. page 488). Des constatations analogues ont été recueillies à l'occasion de nos études concernant les syphilomes

provoqués chez le lapin par l'inoculation de virus Truffi. Voici, d'ailleurs, ces dernières constatations :

a) Chez plusieurs lapins, les syphilomes d'âge variant entre vingt-cinq et cinquante-trois jours contenaient des formes spirochéliennes involutives, ressemblant en tous points à celles décrites précédemment;

b) Chez treize animaux, soumis au traitement par l'arséno-

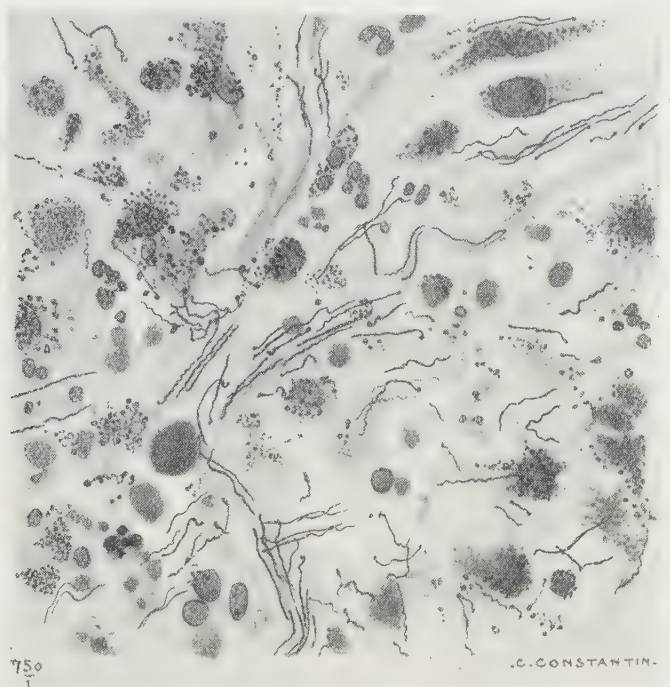


FIG. 5. — Lapin 494 Z. Même légende. Formes spirochéliennes très allongées, ayant perdu en partie leurs ondulations. Même méthode. Gross. : 750/1.

benzène [(Novarsénobenzol Billon), le bismuth, le tellure (1), ou un dérivé arséno-bismuthique solubilisé (H^{21})], les chancres renfermaient les mêmes formes involutives, et cela dans une proportion de 61 p. 100 (fig. 4 et 5, p. 490 et 491).

En résumé, qu'il s'agisse de lésions syphilitiques primaires

(1) Cf. LEVADITI. *C. R. Acad. Sciences*, 184, 1927, p. 783.

en voie de guérison spontanée ou thérapeutique, ou de greffons de ganglions considérés à la phase tréponémique de leur évolution, un fait est certain : c'est que le tréponème subit dans les monocytes, les cellules géantes ou les fibroblastes des modifications morphologiques que l'on peut résumer ainsi :

La forme nettement et régulièrement spiralée est remplacée progressivement par des spirochètes plus courts, plus épais et moniliformes; ceux-ci se raccourcissent davantage et montrent des renflements à l'une ou aux deux de leurs extrémités. Par la suite, le parasite se dispose en boucles, d'abord incomplètement fermées, ultérieurement plus complètes. Plus tard, et après s'être disposé en pelotes serrées, le tréponème prend l'aspect d'une virgule, puis se transforme en granulations rondes, ovalaires ou irrégulières. Celles-ci finissent par devenir si petites qu'elles ne peuvent être distinguées que très difficilement. Leurs dimensions ne dépassent pas, dans ce cas, $0,1 \mu$ à $0,3 \mu$.

Pour nous, ces formes granulaires presque ultramicroscopiques représentent la phase pré-spirochétienne du virus syphilitique. Les pelotes serrées, de même que les granulations argentophiles, seraient capables de se transformer, à leur tour, d'abord en tréponèmes (formes jeunes), ensuite en spirochètes de plus en plus longs et riches en ondulations (formes adultes). Elles seraient capables d'assurer la conservation du germe dans les tissus pendant les périodes latentes de la maladie (formes de résistance), et constitueraient des réserves de virus, en dépit de certains traitements spécifiques (origine des récidives).

..

Ces formes sont-elles filtrables? Nos expériences ne nous autorisent pas à l'affirmer. En effet, les animaux inoculés avec des filtrats de chancre, ou de ganglions virulents (bougies Chamberland L^1 , L^2 et L^3 , membranes en collodion), n'ont pas contracté l'infection, leurs ganglions ne se sont pas montrés virulents et ils n'ont pas résisté à une inoculation d'épreuve pratiquée ultérieurement. Voici trois de nos essais de filtration :

EXPÉRIENCE I. — a) *Syphilome du lapin 403 D.* Tissu riche en tréponèmes, trituré finement, et additionné d'eau sa'ée isotonique. Filtration à travers une

bougie Chamberland L^3 . Inoculation du filtrat sous la peau du scrotum et dans les deux testicules des lapins 724 D, 728 D et 730 D. Résultat négatif (quatre-vingt-dix-neuf jours d'observation).

b) Ganglions poplités du même lapin. Même dispositif expérimental. Inoculation du filtrat aux lapins 725 D et 727 D. Résultat négatif (quatre-vingt-dix-neuf jours d'observation).

EXPÉRIENCE II. — Ganglions du lapin 380 D, porteur de deux nodules scrotaux riches en tréponèmes. La greffe de ces ganglions, pratiquée au lapin 740 D, a donné un résultat positif après soixante jours d'incubation. Filtrat d'extrait ganglionnaire sur bougie Chamberland L^3 , injecté aux lapins 744 D, 745 D, 746 D, 747 D et 748 D. Résultat négatif (quatre-vingt-quinze jours d'observation).

EXPÉRIENCE III. — Chancres tréponémiques du lapin 154 N. L'émulsion contient des spirochètes mobiles et immobiles. Filtration sur bougie Chamberland L^1 . Le filtrat est inoculé aux lapins 440 N, 443 N, 442 N, 447 N, 445 N, 446 N, 441 N et 444 N. Résultat négatif après soixante et onze jours d'observation. A ce moment, on inocule à cinq de ces lapins le virus Truffi. Résultat positif (absence d'immunité anti-chancreuse). Les ganglions poplités des lapins 440 N, 443 N, 442 N, 447 N, 445 N, 446 N, 441 N et 444 N sont excisés quarante-quatre et cinquante-neuf jours après l'inoculation du filtrat. Ils sont greffés à des lapins neufs : résultat négatif (*absence de tréponémose inapparente*).

Deux autres expériences [(filtration sur bougie Chamberland L^1 bis et sur sac en collodion (trois couches)] ont également fourni des résultats négatifs.

*
*
*

L'hypothèse, envisagée déjà par Schaudinn, d'un cycle évolutif complexe du virus syphilitique, comportant des formes granulaires presque ultramicroscopiques, dont la présence dans les ganglions lymphatiques assurerait la virulence du tissu lymphoïde en l'absence de tréponèmes typiques, est rendue plausible par les faits exposés dans ce Mémoire. Elle demande à être vérifiée sur des bases nouvelles, ce que nous essayons de réaliser actuellement. D'ailleurs, Truffi en tient compte, puisqu'il affirme que « l'absence de spirochètes dans les ganglions pourrait s'expliquer par l'existence du parasite à une phase de développement non décelable par les méthodes habituelles (1) ».

En attendant, nous ferons remarquer que cette hypothèse est appelée à expliquer :

(1) Cf. également Ross. *Brit. med. Journ.*, n° 2711, 1912, p. 1651.

1° *L'infection syphilitique latente avec présence de virus dans certains tissus dépourvus de tréponèmes*; 2° *la possibilité de certains cas de paralysie générale ou de tabes sans spirochète dans le névraxe* [Marchand (1)], *et peut-être l'inefficacité fréquente des traitements spécifiques dans la parasymphilie*; 3° *les récidives survenant en dépit des meilleurs spécifiques*, les formes de résistance étant moins sensibles aux agents chimiothérapeutiques que les formes végétatives (spirochètiennes).

(1) MARCHAND *Presse médicale*, n° 70, 1921, p. 695.

SUR LE BACILLE DE L'ENTÉRITE PARATUBERCULEUSE DES BOVIDÉS

par A. BOQUET.

L'entérite hypertrophiante ou paratuberculeuse des bovidés a été longtemps considérée comme une forme spéciale de l'infection tuberculeuse due à un bacille du type aviaire. En 1903, Markus, puis Van der Sluis, observant que la muqueuse intestinale et les ganglions mésentériques des animaux malades ne provoquaient aucune lésion lorsqu'on les inoculait au cobaye, à la poule et à la chèvre, distinguèrent cette affection de la tuberculose, mais ne parvinrent pas à cultiver son agent causal, le bacille acido-résistant que Johne et Frothingham avaient découvert en 1895.

Après quelques essais d'inoculations effectués par Liénaux et Van den Eeckhout (1905), entachés d'erreur par suite de la coexistence du germe spécifique et du bacille de Koch dans le suc ganglionnaire qu'ils injectaient, B. Bang (1906) réussit à transmettre la maladie à plusieurs veaux et lui donna le nom d'*entérite chronique pseudo-tuberculeuse ou paratuberculeuse* des bovidés.

Enfin, en 1912, F. W. Twort et G. L. Ingram obtinrent la culture du bacille de Johne sur des milieux spéciaux et démontrèrent son rôle étiogénique par l'inoculation à des bovidés, des chèvres et des moutons.

Depuis leurs travaux, J. Mac Fadyean, J. T. Edwards et A. L. Sheather en Angleterre, H. Holth en Allemagne, L. Meyer aux États-Unis, L. Panisset et J. Verge, H. Vallée et P. Rinjard en France complétèrent l'étude expérimentale de l'entérite et s'efforcèrent de mettre au point les méthodes biologiques de son diagnostic.

*
* *

De plus en plus fréquemment observée en Europe, dans l'Inde anglaise, dans l'Afrique du Sud et aux États-Unis, l'en-

térite paratuberculeuse cause chaque année des pertes considérables. Elle atteint surtout les bovidés adultes, mais il n'est pas exceptionnel de la constater chez les ovins (Vukovic), chez les chèvres (Mac Fadyean, Edwards et Sheather), les buffles (Stockmann) et même les daims. Sauf une observation douteuse de Liéniaux, elle n'a pas été signalée chez le cheval et chez l'âne. Par sa contagiosité extrême, la rapidité de sa diffusion et sa gravité, cette affection apparaît plus redoutable encore que la tuberculose pour les bovins.

Chez ces animaux, elle se manifeste essentiellement par de la diarrhée, de l'anémie et un amaigrissement croissant. Son évolution, lente et apyrétique, est parfois interrompue par de courtes périodes de rémission, mais elle se termine invariablement par la mort, qui survient au bout de quelques mois ou d'une année. Aucune méthode thérapeutique efficace n'a pu jusqu'ici lui être opposée.

En dehors de la cachexie plus ou moins profonde et des altérations tissulaires qui l'accompagnent, les seules lésions caractéristiques trouvées à l'autopsie siègent dans la moitié inférieure de l'intestin grêle, principalement dans la région iléo-cæcale, et sur le côlon. Elles consistent dans l'épaississement et le plissement transversal de la muqueuse, dont les sillons sont verruqueux alors que leur partie saillante reste lisse. Les plaques de Peyer sont un peu tuméfiées. On note encore, en divers points, des petits foyers congestifs ou hémorragiques sous-muqueux et des érosions, mais jamais de formations nodulaires ni d'ulcérations comme dans la tuberculose intestinale (B. Bang, E. Leclainche). Les ganglions mésentériques, volumineux et infiltrés, n'offrent aucune lésion dégénérative, sauf chez la chèvre où Mac Fadyean et ses collaborateurs ont observé des petits nodules caséux, superficiels, du volume d'un grain de blé à celui d'une noisette. Tous les autres organes restent indemnes, et les recherches les plus attentives n'y révèlent pas la présence de bacilles acido-résistants.

A l'examen histologique, les villosités intestinales apparaissent déformées et envahies par des cellules épithélioïdes autour desquelles des bacilles se groupent en amas. Les cellules géantes sont assez rares et généralement pauvres en germes phagocytés; on les rencontre à la fois dans la muqueuse, la

sous-muqueuse et les villosités. D'après Mac Fadyean, l'infiltration cellulaire reste diffuse; elle provoque l'effacement progressif du tissu normal et la destruction des glandes intestinales, mais elle n'aboutit en aucun cas, chez les bovidés, à la nécrose et à la caséification qui sont l'apanage du bacille tuberculeux.

Les lésions des ganglions mésentériques débutent au niveau des espaces lymphatiques où s'accumulent des cellules épithélioïdes. Peu à peu les éléments lymphoïdes disparaissent et se trouvent remplacés par un tissu dont l'aspect rappelle celui du tissu conjonctif enflammé. Les cellules géantes sont plus nombreuses que dans les lésions de la muqueuse intestinale (Mac Fadyean).

I. — Caractères morphologiques et tinctoriaux du bacille de Johné.

Dans les tissus infectés (1) [muqueuse intestinale, ganglions lymphatiques] et dans les matières fécales avec lesquelles il est éliminé en abondance par les animaux malades, le bacille de l'entérite hypertrophiante (fig. 1) se présente tantôt sous la forme de bâtonnets de 1 à 2 μ de long sur 0 μ 5 de large, droits ou incurvés, dont les extrémités sont arrondies ou légèrement effilées, tantôt sous la forme de cocco-bacilles, tantôt enfin comme de simples granulations. On trouve également des bacilles plus allongés, réguliers dans leurs contours ou étranglés en haltère, et des éléments renflés à une de leurs extrémités ou globuleux. Par leur aspect et leur polymorphisme, ces germes rappellent davantage le bacille de la fièvre que le bacille de Koch.

Ils sont généralement libres, isolés ou groupés en amas polygonaux ou circulaires constitués par des éléments étroitement serrés les uns contre les autres, enchevêtrés ou disposés régulièrement, ou encore rayonnant autour d'un centre.

(1) Grâce à l'obligeance de M. le Dr Lebailly et de notre collègue G. Ramon, nous avons pu disposer d'un abondant matériel de recherches provenant d'animaux naturellement infectés. Nous sommes heureux de leur en exprimer nos remerciements les plus cordiaux.

Gram-positifs et nettement acido-résistants, ils apparaissent uniformément colorés en rouge par la méthode de Ziehl-Neelsen ou ponctués d'une ou plusieurs granulations plus foncées.

Sur les milieux solides (cultures de six semaines), les bacilles sont plus longs et plus épais. Colorés par la méthode de Ziehl, nombre d'entre eux présentent un large espace clair central que délimitent une mince paroi acido-résistante et deux granulations arrondies ou légèrement allongées, réparties symétriquement aux extrémités du corps microbien.

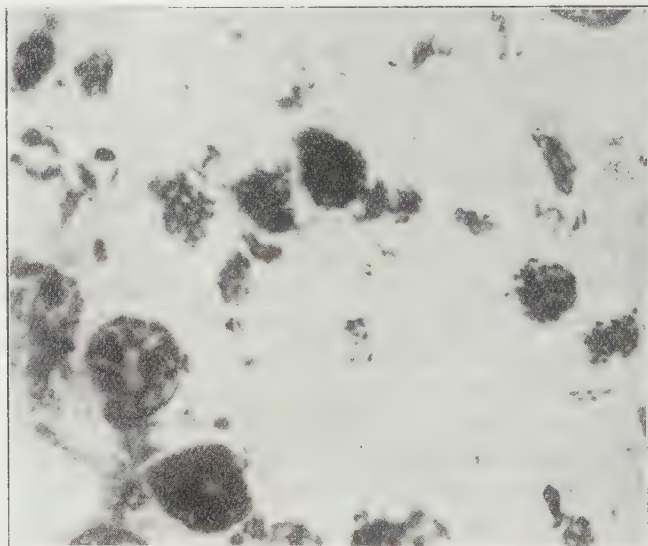


FIG. 1. — Bacilles de Johne libres et en amas dans les ganglions mésentériques. (Photog. P. Jeantet.) Gross. : 1.850.

Leur polymorphisme est surtout marqué dans les cultures en milieu liquide (milieu synthétique de Sauton) où l'on trouve associés des formes longues et granuleuses, de courts bâtonnets trapus, des éléments cocciformes et des granulations libres, parfois d'une extrême finesse. Les bacilles y sont isolés ou groupés en amas identiques à ceux des lésions, mais l'acido-résistance fait défaut chez un assez grand nombre d'entre eux (fig. 2).

G. H. Morin et J. Valtis ont démontré que ces cultures ren-

ferment des éléments susceptibles de traverser les bougies Chamberland L₂ et de se reproduire *in vivo* sous la forme de bacilles acido-résistants.

II. — Caractères cultureux.

Le bacille de Johne, microbe aérobic, ne se multiplie *in vitro* que sur les milieux artificiels glycélinés et *additionnés d'une*

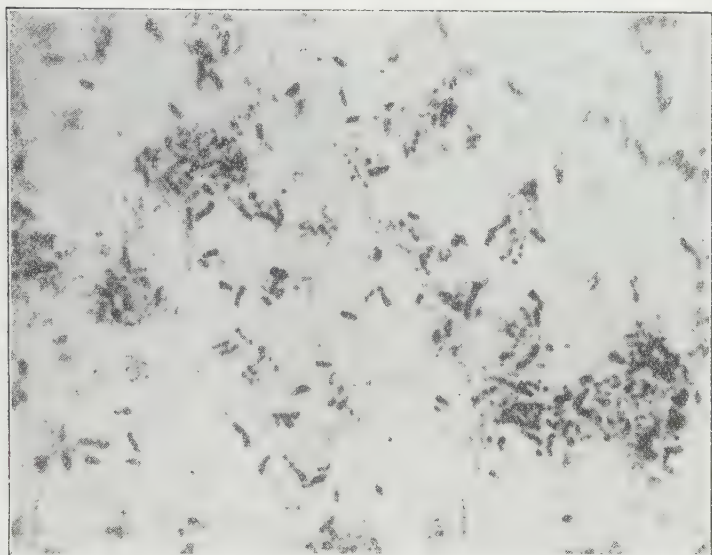


FIG. 2. — Bacilles de Johne cultivés sur le milieu de Santon.
(Photog. P. Jeantet.) Gross. : 1.850.

petite quantité de bacilles tuberculeux ou paratuberculeux morts ou d'extraits de ces microbes. Nous reviendrons plus loin sur ce fait, découvert par F. W. Twort et G. L. Ingram, qui représente une des plus curieuses acquisitions de la microbiologie expérimentale.

Dans les conditions optima de température, c'est-à-dire à 38-39°, et sur les milieux solides, additionnés d'extraits bacillaires et légèrement alcalinisés (milieu à l'œuf de Dorset, gélose nutritive glycélinée + sérum de bœuf) [Mac Fadyean, Edwards

et Sheather] bouillon de foie + sérum de cheval Holth), le développement des bacilles s'opère toujours avec une extrême lenteur. Les premières colonies n'apparaissent pas avant la sixième ou la huitième semaine. D'abord punctiformes et isolées, elles atteignent vers le troisième mois 0^{mm}5 à 1^{mm} de diamètre et présentent, comme les colonies de bacilles de Koch, l'aspect de petits amas grisâtres, saillants et mamelonnés, peu adhérents. A mesure qu'elles grossissent, elles s'entourent d'une fine pellicule blanche, sèche, translucide, qui s'étend peu à peu à la surface du milieu. Transplantée sur les milieux liquides (bouillon ordinaire, bouillon de foie, bouillon-sérum additionnés d'extraits de bacilles de la fléole), cette pellicule bacillaire s'accroît lentement et forme en deux ou trois mois un voile grêle, blanc grisâtre, plissé.

Après plusieurs passages sur les milieux spéciaux, la végétation est un peu plus rapide et plus abondante. Néanmoins la récolte reste médiocre comparativement à celle que fournissent les bacilles tuberculeux et paratuberculeux, et la préparation en grandes masses de corps microbiens offre de telles difficultés que l'étude bio-chimique du bacille de Johné est à peine ébauchée. C'est ce petit problème pratique que nous avons tout d'abord essayé de résoudre en nous fondant sur les travaux précités.

Aux milieux très complexes employés jusqu'ici, nous avons substitué le liquide synthétique de Sauton très favorable, comme on sait, à la culture du bacille de Koch et dont la composition est la suivante :

	GRAMMES
Asparagine	4
Acide citrique	2
Phosphate bipotassique	0,5
Sulfate de magnésium	0,5
Citrate de fer ammoniacal	0,05
Glycérine	60
Eau	1.000

On ajuste ce milieu à pH : 7,2 avec de l'ammoniaque et on l'additionne de 40 p. 100 de l'extrait suivant, préparé d'après les indications de Twort et Ingram et selon la formule que notre ami P. Rinjard, chef du laboratoire vétérinaire au centre de

recherches du Ministère de l'Agriculture, a bien voulu nous communiquer.

Mettre en suspension, dans 300 cent. cubes d'eau glycinée à 20 p. 100 et salée à 8 p. 1.000, 10 grammes de bacilles de la fléole secs et finement broyés, provenant de cultures en bouillon glyciné âgées de deux semaines; chauffer à l'autoclave à 120° pendant une heure; laisser reposer; décanter. Ajouter 10 parties de liquide pour 90 parties de milieu de Sauton; répartir en ballons de 2 0 cent. cubes, et, finalement, stériliser à 110° pendant quinze minutes.

Dès le cinquième ou le sixième jour, un fragment de voile

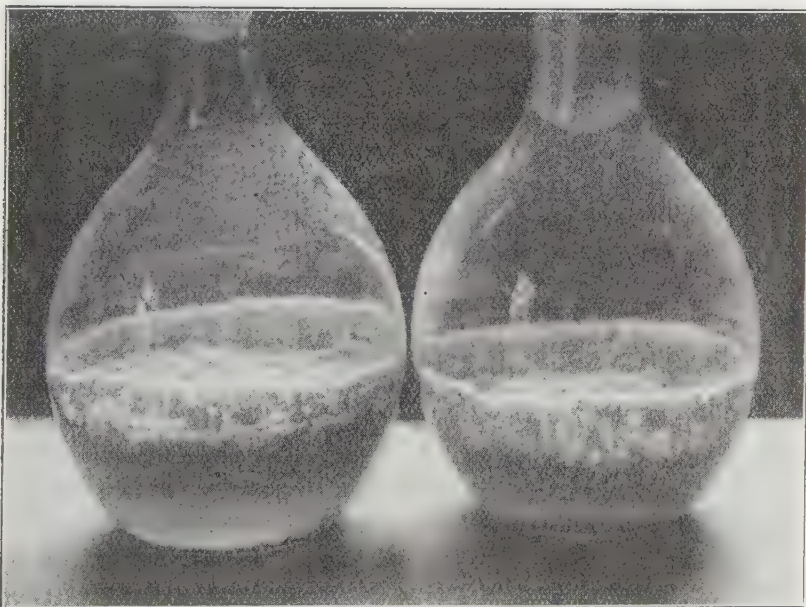


FIG. 3. — Cultures âgées de huit semaines sur le milieu de Sauton additionné de 10 p. 100 d'extrait de bacilles de la fléole. (Photog. P. Jeantet.)

jeune, déposé à la surface de ce milieu, s'accroît manifestement; puis il s'étend peu à peu pour former vers la quatrième semaine une pellicule blanche, mince et gaufrée; ensuite la membrane s'épaissit, se plisse, remonte vers les parois du vase, et la culture atteint son maximum vers la fin du deuxième ou du troisième mois (fig. 3). Le liquide reste toujours d'une limpidité parfaite, mais prend une teinte verdâtre.

La récolte fournit en moyenne 5 à 6 grammes de bacilles essorés par ballon de liquide de Sauton (120 cent. cubes) additionné de 10 p. 100 d'extrait de bacilles de la fléole. Elle est moins abondante dans les milieux ne renfermant que 5 p. 100 d'extrait et devient presque nulle lorsqu'on abaisse cette proportion au-dessous de 1 p. 100.

Desséchés à l'étuve pendant vingt-quatre heures, en couche mince, étalée sur du papier à filtrer, les corps microbiens brunissent et abandonnent environ 80 p. 100 d'eau. Épuisés ensuite pendant vingt heures par l'alcool méthylique dans l'appareil de Kumagawa, ils perdent 31,5 p. 100 de leurs matières grasses, de leurs cires et de leurs lipoides.

Sur la pomme de terre au milieu de Sauton préparé d'après les indications précédentes, le bacille de Johné se développe plus rapidement encore que sur les milieux liquides. En trois à cinq semaines, on obtient une couche épaisse, blanche et mamelonnée, qui pèse en moyenne 60 à 70 centigrammes par tranche (fig. 4)). Du sixième au dixième jour, un voile mince recouvre le liquide qui baigne la pomme de terre; il est alors facile d'en prélever un fragment pour le transplanter avec les précautions d'usage sur les milieux liquides (1).

Les milieux solides organiques : sérum coagulé glyciné, milieu à l'œuf de Dorset glyciné à 5 p. 100 (Twort et Ingram) et milieu de Pétroff contenant 10 p. 100 d'extrait de bacilles de la fléole, donnent des résultats moins satisfaisants. Sur la pomme de terre cuite dans la bile glycinée à 5 p. 100, selon la technique de Calmette et Guérin, et additionnée de la même proportion d'extrait bacillaire, la culture, d'abord grêle, augmente à chaque passage et forme une couche grasse, épaisse, verdâtre qui, en quatre à six semaines, recouvre entièrement la tranche de pomme de terre (fig. 5).

Twort et Ingram conseillent d'alcaliniser légèrement les

(1) Pour obtenir dans un tube de pomme de terre des voiles fins, aisément transplantables, il suffit d'enlever aseptiquement la tranche au moyen d'une spatule stérile et chaude dès qu'une mince membrane recouvre le liquide. Replacer à l'étuve en position inclinée. Trois ou quatre jours après, la pellucule d'un seul tube peut servir à l'ensemencement d'une quinzaine de ballons. Reporter le tube à l'étuve; en six ou huit jours un nouveau voile s'y développe, que l'on peut de nouveau transplanter, et ainsi de suite, à deux ou trois reprises. Cette technique est également applicable au bacille tuberculeux.



FIG. 4. — Bacille de Johne; culture (trois semaines) sur pomme de terre au liquide de Sauton. (Photog. P. Jeantet.)

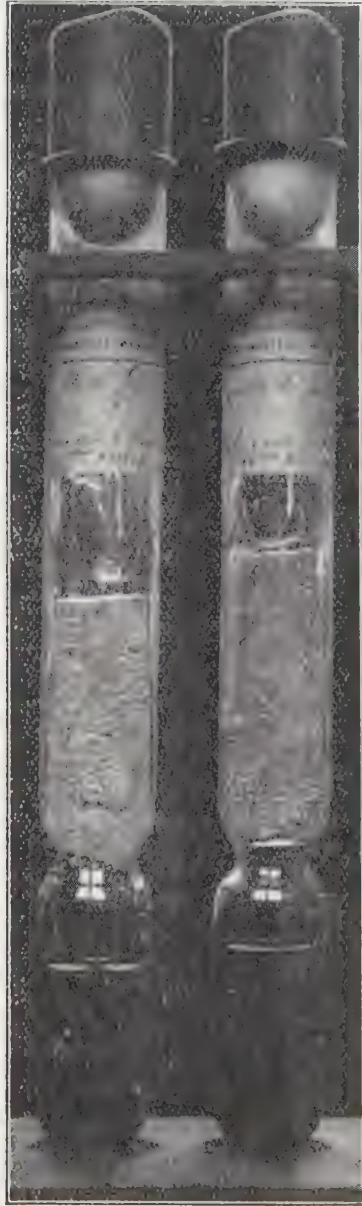


FIG. 5. — Bacille de Johne; culture (quatre et huit semaines) sur pommes de terre biliées. (Photog. P. Jeantet.)

milieux destinés à la culture du bacille de Johnne, et nous avons pu constater que la réaction la plus favorable pour le liquide de Sauton correspond à pH 7,2. Mais, à vrai dire, le bacille de l'entérite se montre beaucoup moins sensible que les bacilles tuberculeux aux variations de l'alcalinité ou de l'acidité dans les milieux synthétiques, car nous avons obtenu des récoltes d'égale abondance sur plusieurs séries de pommes de terre au liquide de Sauton ajusté à un pH croissant de 6,8 à 8.

A partir du moment où la culture progresse, le liquideensemencé s'acidifie. De 7,2 au départ, le pH s'abaisse à 6 vers la quatrième semaine, puis à 4,9 de la huitième à la dixième semaine, au moment où le voile atteint son maximum d'épaisseur et d'étendue (1).

De toutes les substances azolées assimilables, l'asparagine est celle qui convient le mieux à la nutrition du bacille de Johnne; elle peut être cependant remplacée, sans diminution importante de la récolte, par un acide monoaminé, la leucine à 4 p. 1.000. Par contre, l'alanine, l'acide aspartique et les sels ammoniacaux (phosphate et azotate à 4 p. 1.000) ne conviennent pas.

Les constituants minéraux du milieu synthétique (sulfate de magnésie et phosphate dipotassique) sont indispensables à la végétation. Quant au citrate de fer, dont le liquide de Sauton ne contient que de très faibles quantités (1 p. 50.000), il active le développement des germes comme si le métal de ce sel intervenait par une sorte d'effet catalytique; on peut lui substituer sans inconvénient le lactate de fer et le lactate de manganèse dans les mêmes proportions.

Aucun développement n'a été obtenu sur les milieux non glycélinés et sur les milieux glucosés à 4 p. 100.

La température optimum de culture est de 38°-39°. Mais la végétation s'effectue jusqu'à 43°-44° (Twort et Ingram); à 46°-48° elle est nulle, alors que celle des bacilles paratuberculeux saprophytes s'est poursuivie dans nos expériences jusqu'à 50°

(1) Cette acidification progressive du milieu de Sauton n'est pas particulière au bacille de Johnne. Les bacilles tuberculeux virulents ou avirulents et le bacille paratuberculeux de la fièvre la produisent également. Pour le bacille de la fièvre, le pH , étant au départ de 7,2, s'élève à 8 trois jours après l'ensemencement, puis s'abaisse à 6 le neuvième jour, et enfin à 4,5 le quatorzième jour.

pour le bacille de Grassberger et jusqu'à 54° pour le bacille de la fléole.

Conservées à 38° et protégées contre la dessiccation, les cultures sur pomme de terre peuvent être encore être transplantées avec succès pendant cinq ou six mois, ce qui indique une vitalité plus grande que celle des bacilles tuberculeux et paratuberculeux (1). Il convient toutefois, pour entretenir une végétation abondante et rapide, de repiquer les cultures toutes les quatre ou cinq semaines.

On obtient facilement l'isolement et la culture du bacille de Johné à partir des lésions en employant les méthodes suivantes :

Lorsqu'il s'agit de produits bacillifères non souillés par des germes d'infections secondaires (ganglions mésentériques prélevés peu de temps après la mort), cautériser largement et aspirer avec une pipette de gros calibre une petite quantité de pulpe que l'on étalera à la surface d'une tranche de pomme de terre (liquide de Sauton + extrait de bacilles de la fléole) en appuyant fortement au moyen d'une large spatule. Capuchonner et mettre à l'étuve à 38° en position inclinée.

La muqueuse intestinale malade, toujours souillée par des germes sporulés, sera, au préalable, traitée par la soude à 4 p. 100, de préférence à l'antiformine préconisée par Mac Fadyean et ses collaborateurs.

Laver d'abord abondamment la muqueuse avec de l'eau physiologique ou de l'eau bouillie et en découper des petits fragments de quelques millimètres de côté. Broyer ces fragments avec du sable stérile, ajouter huit ou dix fois leur volume de soude à 4 p. 100 et laisser en contact trois heures à l'étuve, comme pour les tissus tuberculeux traités d'après la méthode de Pétroff. Ensuite centrifuger, décantier et neutraliser le culot que l'on étalera comme précédemment sur des tranches de pomme de terre au liquide de Sauton + extrait de bacilles de la fléole.

Quatre ou cinq semaines après l'ensemencement, et souvent davantage, on distingue quelques petites colonies grisâtres qui s'accusent peu à peu. Lorsqu'elles atteignent 2 à 3 millimètres de diamètre, on les transplante en les étalant. Dès le deuxième passage, elles deviennent plus nombreuses et plus étendues,

(1) Ces derniers germes (*b. de la fléole*, de Grassberger, *Grassbacillus*), qui restent vivants pendant plusieurs mois à la température du laboratoire, meurent, en effet, en quelques semaines à l'étuve.

quoique toujours isolées; au troisième et au quatrième passage, elles se développent plus rapidement et un léger voile recouvre le liquide au fond des tubes de pomme de terre; au cinquième passage ou au sixième, la culture atteint sa richesse maximum.

Pour l'envoi au laboratoire, prélever un fragment d'intestin malade, le laver abondamment et l'introduire dans un flacon à large ouverture contenant de l'eau glycinée à 25 p. 100. Les ganglions mésentériques correspondants seront expédiés à part dans le même liquide conservateur.

LA SUBSTANCE ESSENTIELLE, FAVORISANTE, DES EXTRAITS MICROBIENS.

De toutes les bactéries pathogènes, cultivables sur les milieux artificiels, le bacille de Johnne apparaît comme le plus exigeant, sinon dans son métabolisme, au moins dans les conditions initiales de son développement. Il représente l'avant-dernier anneau de cette longue chaîne de bacilles acido-résistants qui commence avec les bacilles paratuberculeux des végétaux, se continue par les bacilles du beurre, du lait, des matières grasses en général, puis aborde le parasitisme avec les bacilles paratuberculeux des animaux à sang froid, en parcourt toute la gamme avec les différents types de bacilles tuberculeux et s'achève par le bacille de la lèpre dont la culture authentique n'a pu être obtenue jusqu'ici.

Son électivité pour la muqueuse intestinale des bovidés, où il se multiplie avec une extrême abondance sans se répandre dans les autres organes en dehors des ganglions mésentériques, indique qu'il trouve dans ce milieu organique, exclusivement, les circonstances les plus propices à sa multiplication. Après l'échec des premières tentatives de culture sur les milieux habituels du laboratoire, cette constatation devait conduire les expérimentateurs à employer des milieux spéciaux, enrichis par l'addition de fragments ou d'extraits d'intestin et de ganglions lymphatiques. F. W. Twort et Ingram n'y ont pas manqué; mais toutes les tentatives qu'ils effectuèrent dans cet ordre d'idées sont restées infructueuses.

Ces auteurs se sont alors demandé si le bacille de Johnne, en devenant parasite strict, n'avait pas définitivement perdu la faculté d'élaborer ses matériaux protoplasmiques aux dépens des protéines, des peptones et de la glycérine des milieux de

culture, par suite de l'absence d'une substance intermédiaire dans la série de ses réactions nutritives. Moins éloignés du saprophytisme initial, les bacilles tuberculeux produiraient aisément cette *substance essentielle, in vitro*. Par conséquent, en incorporant des cadavres de ces microbes aux milieux de culture, on pourrait offrir au bacille de l'entérite, sous une forme directement assimilable, tous les éléments indispensables à sa végétation. L'expérience ne tarda pas à démontrer l'exactitude de ce raisonnement.

La *substance essentielle* existe non seulement dans les bacilles tuberculeux humains et la tuberculine (Meyer), mais aussi, d'après Twort et Ingram, dans les bacilles aviaires (en petite quantité), dans les bacilles acido-résistants du smegma, de Karlinski, de Marpmann, de Grassberger, de la pseudo-pommelière et surtout dans le bacille de la fléole. Par contre, elle serait défaut dans les bacilles paratuberculeux de Dubard, de Rabinowitsch et de Tobler, dans les bacilles tuberculeux bovins, cultivés sur le milieu à l'œuf, et dans les bacilles non acido-résistants.

Les mêmes auteurs signalent également sa présence dans divers graines et fruits : graines de lin, avoine, maïs, orge, pois comestible, figues, tomates, raisins, mais non dans la levure et les champignons.

Peu soluble dans l'eau distillée et le chloroforme, elle se dissout, surtout à chaud, dans l'eau salée glycinée, dans l'alcool absolu, l'éther, l'éther de pétrole, l'acétone et l'alcool méthylique. Elle est retenue en partie par le papier à filtrer et plus encore par les bougies de porcelaine et par le charbon animal. Le chauffage pendant une heure à 100° ou une demi-heure à 120° ne l'altère pas.

D'après nos essais, les extraits acétoniques de bacilles tuberculeux, préparés par macération à 38° pendant huit jours (1 cent. cube de solvant par centigramme de corps microbiens secs), conviennent mieux que les extraits acétoniques de bacilles de la fléole (90 parties de liquide de Sauton pour 10 parties d'extrait, dont l'acétone a été éliminé par distillation dans le vide et remplacé par une quantité égale d'eau distillée). Mais l'acétone ne dissout qu'une partie des substances actives, car les extraits méthyliques ou glycinés de bacilles tubercu-

leux ou de bacilles de la fléole préalablement traités par ce solvant des graisses et des cires bacillaires favorisent encore très nettement la culture du bacille de l'entérite hypertrophiante.

F. W. Twort et Ingram avancent que la *substance essentielle* est un acide organique que le bacille de Johnne, dépourvu des diastases oxydantes nécessaires, est incapable d'élaborer aux dépens de la glycérine ou des sucres. Pour vérifier cette hypothèse, ils ont cherché à remplacer les extraits bacillaires par divers acides organiques (tartronique, gluconique, saccharique, mucique, fumarique, malique, aconitique, glyoxylique, glycolique, succinique, tartrique et oxalique). Mais ils n'ont obtenu aucun résultat, sauf dans une faible mesure, avec les milieux contenant de l'acide tartronique, de l'acide gluconique, et, surtout, de l'acide glycérocinique. Nous avons également échoué en employant les valérienate, cinnamate, propionate, caséinate et nucléinate de soude incorporés au liquide de Sauton dans la proportion de 2 p. 100, les acides α et β oxybutyriques à 0,20 p. 100 et le pyruvate de chaux à 0,02 p. 100. Par contre, un voile assez épais s'est développé sur le même milieu additionné de 0,05 à 0,10 p. 100 de lactate de fer.

Échec complet avec l'amidon soluble, l'inuline, la lécithine à 2 p. 100 et avec les cendres des bacilles de la fléole dissoutes dans le milieu de Sauton dans une proportion correspondant à celle des extraits bacillaires. Parmi les gommes microbiennes dont nous avons pu faire l'essai, grâce à l'obligeance de notre collègue M. Schœn (*Torula*, *Granulobacter*, *Gommobacter* isolé par Lagrange), seule celle du bacille de Lagrange a nettement activé la végétation.

Par sa résistance à la chaleur, la *substance essentielle* des bacilles acido-résistants se distingue des *auximones* de Bottomley; mais il est permis de la comparer au « bios » des extraits de levures qui, d'après Wildiers, est nécessaire à la multiplication des *Saccharomyces*ensemencés par unités dans les milieux synthétiques. Elle se rapproche aussi du *facteur X*, thermostable, du sang, étudié par Thjötta et Avery, et qui, inactif par lui-même, exerce une action favorisante très nette sur la culture du bacille de Pfeiffer lorsqu'on lui associe un autre *facteur V* moins résistant à la chaleur. On peut supposer

qu'elle intervient comme un catalyseur dans la nutrition du bacille de Johne et remplace une diastase défailante. Mais, en réalité, sa nature exacte et sa fonction restent inconnues.

III. — Inoculation expérimentale et propriétés pathogènes.

La transmission de l'entérite paratuberculeuse a été réalisée pour la première fois avec succès par B. Bang, en 1906, sur 2 veaux auxquels il avait fait ingérer 300 grammes de muqueuse intestinale, en même temps qu'il leur inoculait 40 cent. cubes d'une suspension de pulpe ganglionnaire, l'un dans la jugulaire, l'autre dans la cavité péritonéale. Ces résultats ne tardèrent pas à être confirmés par Miessner et Trapp, Malm et Meyer.

Avec les bacilles qu'ils venaient de cultiver sur les milieux artificiels, F. W. Twort et Ingram réussirent également à infecter 2 jeunes *bovidés* par inoculation intraveineuse et par ingestion, des *chèvres* et des *moutons* par inoculation intraveineuse et intrapéritonéale.

La maladie expérimentale débute vers la fin du deuxième mois après l'inoculation; mais elle évolue avec une lenteur telle que les animaux sacrifiés au cours du cinquième ou du sixième mois ne présentent encore que des lésions intestinales insignifiantes.

Mac Fadyean et Sheather obtinrent 2 résultats positifs, 1 négatif et 1 douteux sur 4 essais d'infection des *bovidés* par ingestion de bacilles de culture; 8 résultats positifs et 9 négatifs sur 17 veaux ou génisses inoculés par la voie veineuse.

L'inoculation sous-cutanée ne provoque qu'un abcès local qui se résorbe lentement.

Chez le *mouton*, les mêmes expérimentateurs ont reproduit la maladie dans son aspect anatomo-pathologique, sinon clinique, 3 fois sur 10 essais par inoculation intraveineuse de germes de cultures. 3 *chèvres*, inoculées par la même voie, n'ont présenté aucun symptôme morbide, bien que leurs ganglions mésentériques et leur muqueuse intestinale fussent envahis par les bacilles.

Le *cheval* est réfractaire; un animal de cette espèce auquel

nous avons inoculé, en l'espace de neuf mois, 800 milligrammes de bacilles de l'entérite par la voie veineuse n'a présenté à l'autopsie aucune lésion de l'intestin.

RÉCEPTIVITÉ DES PETITS ANIMAUX DE LABORATOIRE.

Cobaye. — L'inoculation sous-cutanée d'une forte dose de bacilles de Johne (30 à 50 milligrammes) est rapidement suivie, comme d'ailleurs l'inoculation d'une dose égale de bacilles de la fléole, d'un œdème plus ou moins étendu, puis d'un abcès qui se résorbe en quelques semaines. En aucun cas, on n'observe de réaction dans les ganglions lymphatiques correspondants; néanmoins, l'examen microscopique y révèle la présence de bacilles acido-résistants entraînés par la lymphe ou phagocytés.

L'inoculation intrapéritonéale de 100 à 150 milligrammes de bacilles provoque en quelques heures la formation d'un léger exsudat contenant des amas fibrineux. La plupart des germes sont rapidement captés par l'épiploon dans les frottis duquel on les retrouve, dès la vingt-quatrième heure, en masses considérables. Après quatre ou cinq jours, cet organe apparaît hypertrophié et déformé par des nodosités qui se résorbent peu à peu ou s'entourent d'une coque fibreuse, épaisse, et persistent alors plus de dix mois avec leur contenu purulent, riche en bacilles acido-résistants intacts. On trouve également des petits nodules miliaires à la surface du foie, de la rate et de l'intestin; parfois même les bacilles, traversant la paroi diaphragmatique, se répandent dans la cavité thoracique, et l'on constate leur présence dans la plèvre viscérale épaissie en divers points. Les ganglions lymphatiques restent indemnes ou s'hypertrophient légèrement.

Ces petites lésions *ne sont pas réinoculables en s'rie* au cobaye; elles disparaissent sans laisser de traces et ne retiennent nullement sur la santé des animaux. Elles se comportent donc comme les lésions inflammatoires, nodulaires ou diffuses qu'engendrent les bacilles paratuberculeux saprophytes, le bacille de la fléole en particulier, et les bacilles tuberculeux avirulents, comme le BCG de Calmette et Guérin, inoculés à fortes doses dans la cavité péritonéale.

LAPINS. — Aucun des lapins que nous avons inoculés par la voie veineuse avec des quantités de bacilles variant de 50 à 80 milligrammes n'a présenté de troubles généraux ni de lésions viscérales. Il semble cependant que ces animaux ne soient pas absolument réfractaires au bacille de Johnne, car C. Twort a observé chez deux d'entre eux, infectés par inoculation intraveineuse, des altérations caractéristiques de la muqueuse intestinale.

L'inoculation sous-cutanée et l'inoculation intrapéritonéale déterminent, comme chez le cobaye, des petits abcès froids ou des nodules purulents.

RAT BLANC. — Chez le rat blanc, l'inoculation intrapéritonéale de 5 à 10 milligrammes de bacilles de l'entérite provoque la formation, sur le péritoine et dans l'épiploon, de petits nodules grisâtres du volume d'une tête d'épingle, dont le contenu purulent est très riche en germes. Sauf les ganglions mésentériques, qui sont hypertrophiés, les organes abdominaux ne présentent aucune lésion macroscopique, bien que la rate et le foie renferment des bacilles. Les poumons sont indemnes; mais les ganglions trachéo-bronchiques, durs, scléreux, atteignent le volume d'un gros grain de blé. A l'examen microscopique des frottis de ces ganglions, on trouve des quantités parfois énormes de bacilles isolés ou groupés en amas typiques.

Ces lésions deviennent beaucoup plus importantes lorsqu'on répète à quinze ou vingt jours d'intervalle, aux doses de 10 à 30 milligrammes, les inoculations intrapéritonéales : tubercules péritonéaux nombreux; formations nodulaires disséminées dans la paroi de l'estomac ou de l'intestin grêle, ou sur le foie et le diaphragme auxquels elles adhèrent très intimement; hypertrophie plus marquée des ganglions trachéo-bronchiques qui présentent à leur surface des petits foyers blanchâtres, arrondis, en voie de ramollissement et farcis de bacilles. On rencontre encore de nombreux germes acidorésistants dans le foie et la rate dont le parenchyme est apparemment sain et, en moins grande abondance, dans les ganglions mésentériques. Nous n'en avons pas observé dans les reins et les poumons. La muqueuse de l'intestin grêle ne paraît

pas modifiée; cependant on y trouve, comme dans la paroi même de cet organe, des bacilles acido-résistants.

Nodules et adénites persistent au moins deux mois sans troubler la santé des animaux.

L'inoculation intratesticulaire (5 à 10 milligrammes) est rapidement suivie d'un gonflement inflammatoire de l'organe, puis d'un petit abcès creusé dans le parenchyme où les bacilles pullulent. L'infection s'étend ensuite au péritoine (nodules), au foie, à la rate et jusqu'aux ganglions trachéo-bronchiques.

L'inoculation intrapéritonéale de tissus bacillifères, provenant d'un rat infecté, provoque les mêmes lésions nodulaires que les émulsions microbiennes et l'hypertrophie caractéristique des ganglions trachéo-bronchiques.

Nous n'avons constaté aucun signe d'infection après l'inoculation sous-cutanée et intradermique, ni après l'ingestion de bacilles de Johne, unique ou répétée à quatre ou cinq reprises, à deux ou trois jours d'intervalle, accompagnée d'*ingestion d'extraits de bacilles de la fléole* ou de ces *germes vivants*, dont on pouvait supposer qu'ils seraient susceptibles d'activer le développement *in vivo* du microbe de l'entérite, comme ils favorisent sa végétation dans les milieux de culture artificiels.

De multiples essais d'infection effectués par L. Panisset, J. Verge et V. Carneiro, en déposant des matières virulentes sur des scarifications fraîches de la peau, n'ont donné aucun résultat.

L'étude histologique des lésions provoquées chez le rat blanc par le bacille de Johne a été poursuivie dans notre laboratoire par H.-S. Morin qui en donne la description suivante. Dès le quatrième jour après l'inoculation intrapéritonéale, des cellules épithélioïdes ayant englobé des bacilles pénètrent en petit nombre dans les centres folliculaires, les sinus et les vaisseaux sanguins du hile des ganglions trachéo-bronchiques; puis ces cellules deviennent plus abondantes et se disposent en palissade, pendant que les germes qu'elles contiennent prolifèrent. Les coupes des poumons, des reins, des glandes surrénales et du corps thyroïde ne montrent jamais ni bacilles, ni lésions histologiques. Vers le cinquième jour, le péritoine, au niveau des reins, du foie et de la rate, s'épaissit, puis se desquame, et des cellules mononucléées, renfermant des bacilles,

remplacent l'endothélium disparu. Les ganglions mésentériques restent indemnes.

Chez quelques rats ainsi infectés, Morin a trouvé, sur des coupes d'épididyme intéressant un cul-de-sac de la vaginale, un dépôt riche en mononucléaires peu altérés et bourrés de bacilles en amas étoilés. Des mononucléaires infiltraient également la séreuse desquamée, mais non l'albuginée et le myolemme.

Du cinquième au douzième jour, les cellules parasitées confluent de plus en plus et présentent des altérations (cytolyse et karyolyse) particulièrement accusées dans la zone centrale du nodule qu'elles forment en s'accumulant. Au douzième jour, cette zone est exclusivement constituée par une culture pure de bacilles entassés sur un fond homogène, et quelques cellules géantes apparaissent à la limite interne de la ceinture épithélioïde.

SOURIS BLANCHE. — Chez la souris blanche, moins sensible que le rat au bacille de l'entérite, on observe, après l'inoculation intrapéritonéale (5 à 10 milligrammes), le développement de petits nodules sur la séreuse et l'hypertrophie des ganglions trachéo-bronchiques. C. C. Twort a reproduit une seule fois des lésions typiques de la muqueuse intestinale.

POULE. — Réfractaire, même après l'inoculation intraveineuse de 10 milligrammes de bacilles.

* *

Il ressort de tous ces faits que la virulence du bacille de Johne diffère profondément de celle des trois types classiques de bacilles tuberculeux. Toutefois, en ce qui concerne le rat blanc, il existe une certaine analogie entre l'infection paratuberculeuse et celle que provoque l'inoculation intrapéritonéale de bacilles de Koch peu virulents : nodules épiploïques et péritonéaux, infection du foie et de la rate sans altérations macroscopiques. Mais le bacille de l'entérite manifeste, chez cet animal, une affinité plus exclusive pour les ganglions trachéo-bronchiques où il se fixe électivement sans jamais

envahir les poumons, organes de prédilection pour le bacille de Koch.

Quant aux animaux réceptifs : bovidés, moutons, chèvres, la bénignité de leur infection expérimentale contraste avec la gravité de la maladie naturelle.

Qu'il s'agisse des conditions mêmes de l'inoculation (ingestion répétée de doses massives de bacilles virulents fraîchement émis) ou d'une susceptibilité particulière de certains animaux liée soit à leur nutrition — à une insuffisance de sels de chaux, comme Richart, de Rouen, en a émis l'hypothèse — soit à la présence, dans les aliments végétaux, de substances indispensables au développement des germes *in vivo*, il faut convenir que les facteurs biologiques et biochimiques qui règlent l'activité pathogène du bacille de Johnne sont encore peu connus. Leur étude offre un intérêt d'autant plus vif qu'elle serait, dans une large mesure, transposable à la lèpre humaine. Elle permettrait également de résoudre le problème de la prophylaxie jusqu'à la mise en œuvre d'une méthode de vaccination efficace ; enfin elle apporterait quelque lumière sur les conditions nécessaires ou contingentes du parasitisme microbien en général.

IV. — Toxicité.

Le bacille de Johnne n'élabore aucun poison diffusible dans les milieux de culture et se montre dépourvu de toute toxicité à l'égard des animaux réceptifs et des animaux de laboratoire. Les cobayes supportent, sans manifester d'autre trouble qu'une fièvre de courte durée, 150 à 200 milligrammes de corps microbiens inoculés par la voie péritonéale, et les lapins 80 milligrammes par la voie veineuse, alors que des doses égales de bacilles tuberculeux morts, administrés par les mêmes voies, les tuent en quelques jours avec des lésions viscérales inflammatoires, ou en quelques semaines par cachexie.

Une chèvre, qui avait reçu dans la jugulaire 5 milligrammes de bacilles de l'entérite vivants, n'a présenté, pour tout symptôme, qu'une hyperthermie de 1° quelques heures après l'injection.

Cette absence de toxicité, qui distingue le bacille de Johnne

du bacille de Koch, le rapproche au contraire des bacilles paratuberculeux. Toutefois, si prodigieuse que soit la pullulation des germes spécifiques dans la muqueuse intestinale des bovidés, les manifestations cliniques de l'entérite ne peuvent résulter uniquement de leur action prédatrice ou des troubles fonctionnels qu'ils engendrent. La cachexie progressive des animaux infectés serait inexplicable sans l'existence d'un poison vrai, directement élaboré par les bacilles dans les tissus envahis, ou d'un poison secondaire dû soit aux modifications chimiques qu'ils impriment aux substances nutritives absorbées par l'intestin, soit aux réactions locales et aux altérations du métabolisme cellulaire. D'où l'indication d'une thérapeutique biologique.

V. — Propriétés antigènes *in vivo* et *in vitro*.

AGGLUTININES. — La mise en évidence des agglutinines dans le sérum des animaux infectés est assez délicate parce que le bacille de Johne s'agglomère spontanément dans les milieux de culture en petits amas compacts, très difficiles à dissocier. F. W. Twort et Ingram ont cependant constaté que le sérum des bovidés malades agglutine à 1 p. 15 les bacilles de l'entérite vivants ou morts. Le sérum des veaux, des lapins et des poules expérimentalement infectés se montrerait plus actif (1 p. 20 à 1 p. 40); par contre, celui des moutons et des chèvres serait dépourvu de toute propriété agglutinante.

Mais la réaction n'offre aucun caractère de spécificité, car les sérums qui agglutinent les bacilles de Johne agglutinent également, quoique à un taux un peu moindre, les bacilles tuberculeux et paratuberculeux : réciproquement, le sérum des animaux tuberculeux agglutine le bacille de l'entérite.

PRÉCIPITINES. — Il en est de même pour les précipitines que nous avons recherchées dans le sérum d'un cheval soumis à des inoculations intraveineuses, répétées et massives, de bacilles de Johne. En présence de quantités variables d'extrait bacillaire correspondant (*johnine*), ce sérum donnait les réactions suivantes :

SÉRUM an <i>i</i> , frais	JOHNINE à 1 p. 20 dans l'eau physiologique	EAU physiologique	RÉSULTATS
2	5	»	Trouble immédiat; floculation abondante après 4 heures à 38°.
1	5	1	Trouble immédiat; floculation abondante après 4 heures à 38°.
0,5	5	1,5	Trouble immédiat, fine floculation après 4 heures à 38°.
0,3	5	1,7	Trouble immédiat s'accroissant à 38° sans aboutir à la floculation.
0,1	5	1,9	Trouble immédiat s'accroissant à 38° sans aboutir à la floculation.

Dans les mêmes conditions, on observe une précipitation et une floculation identiques avec la tuberculine brute (humaine et bovine), diluée à 1 p. 20 dans l'eau physiologique, et plus faibles avec la tuberculine aviaire (légère floculation dans les deux premiers tubes seulement); mais la réaction fait défaut avec la malléine qui précipite les sérums antituberculeux (Calmette et Massol).

SENSIBILISATRICE. — Twort et Ingram n'ont obtenu une déviation nette de l'alexine, en présence d'un antigène constitué par une suspension bacillaire, qu'avec le sérum de 2 hovidés sur 8 naturellement infectés. Par contre, la réaction de fixation s'est montrée régulièrement positive avec le sérum de chèvres, de moutons et de lapins soumis depuis plus de deux semaines à une ou plusieurs inoculations de bacilles de l'entérite (C. C. Twort).

De même que l'agglutination et la précipitation, cette réaction n'est pas spécifique. O. Bang et Andersen ont, en effet, signalé que le sérum des animaux atteints d'entérite fixe beaucoup mieux l'alexine en présence d'une suspension de bacilles de Koch qu'au contact des bacilles de Johnne. Selon ces expérimentateurs, les mêmes sérums donneraient :

Résultats positifs avec les bacilles humains	52 p. 100
Résultats positifs avec les bacilles aviaires	28 p. 100
Résultats positifs avec les bacilles spécifiques . .	24 p. 100

En substituant l'antigène tuberculeux méthylique aux sus-

pensions de bacilles de Koch, L. Panisset et J. Verge ont confirmé cette observation.

Dans le dessein de mesurer les variations de ces anticorps polyvalents et d'étudier comparativement les propriétés antigènes du bacille de l'entérite, nous avons préparé un extrait méthylique de ces germes selon la technique générale que nous employons depuis 1921, avec L. Nègre, pour les antigènes tuberculeux : extraction par l'acétone (vingt-quatre heures à la température du laboratoire) de bacilles de Johne lavés et desséchés (1 centigramme par centimètre cube) provenant de cultures en milieu de Sauton âgées de huit à dix semaines; séparation de l'acétone que l'on remplace par un volume égal d'alcool méthylique absolu; extraction pendant dix jours à 38° des corps microbiens résiduels, puis filtration. On emploie pour la réaction 1 cent. cube par tube de cet extrait méthylique dilué au 1/20 dans l'eau physiologique.

Le sérum utilisé dans ces recherches provenait d'un cheval inoculé comme il suit :

9 avril 1926 : Inoculation intraveineuse de 10 milligrammes de bacilles de Johne chauffés pendant trente minutes à 68-70°.

15 avril 1926 : Inoculation intraveineuse de 15 milligrammes de bacilles de Johne chauffés pendant trente minutes à 68-70°.

23 avril 1926 : Inoculation intraveineuse de 30 milligrammes de bacilles de Johne chauffés pendant trente minutes à 68-70°.

30 avril 1926 : Inoculation intraveineuse de 15 milligrammes de bacilles de Johne vivants.

5 mai 1926 : Inoculation intraveineuse de 20 milligrammes de bacilles de Johne vivants.

12 mai 1926 : Inoculation intraveineuse de 50 milligrammes de bacilles de Johne vivants.

20 mai 1926 : Inoculation intraveineuse de 60 milligrammes de bacilles de Johne vivants.

puis 60, 70 et 80 et 90 milligrammes à huit jours d'intervalle. Repos de trois mois suivi, le 9 septembre, d'une reprise des inoculations intraveineuses, d'abord de 30 milligrammes de bacilles vivants, puis de 50 milligrammes (16 septembre), 70 milligrammes (27 septembre), 80 milligrammes (3 octobre), 80 milligrammes (10 octobre) et 80 milligrammes (18 octobre).

Le titrage de la sensibilisatrice a été effectué d'après la méthode de Calmette et Massol (doses croissantes d'alexine)

avec l'antigène tuberculeux méthylique et avec l'extrait méthylique de bacilles de Johne, simultanément.

DATES DES SAIGNÉES	ANTIGÈNE tuberculeux	ANTIGÈNE bacilles de Johne
	unités	unités
27 mai 1926. . . 7 jours après la dernière injection.	700	500
10 juin 1926. . . 7 jours après la dernière injection.	700	200
17 juin 1926. . . 7 jours après la dernière injection.	500	300
24 juin 1926. . . 11 jours après la dernière injection.	300	100
27 octobre 1926. 9 jours après la dernière injection.	500	500

La réaction fut également positive avec la *tuberculine* et avec la *johnine* diluées à 1 p. 25 dans l'eau physiologique ; mais la valeur antigène de ces substances s'est montrée très inférieure à celle des extraits méthyliques, car les titrages effectués en leur présence n'ont pas dépassé 50 unités pour les sérums les plus actifs.

Le sérum d'un lapin, inoculé six semaines auparavant avec 70 milligrammes de bacilles de Johne dans la veine, titrait :

Avec l'extrait méthylique de bacilles de Johne . . .	80 unités.
Avec l'extrait méthylique de bacilles de la fléole . .	80 unités.
Avec l'extrait méthylique de bacilles tuberculeux . .	400 unités.

Enfin, un sérum antituberculeux de cheval a fixé un nombre égal de doses d'alexine (400 unités) avec l'antigène tuberculeux et avec l'extrait de bacilles de l'entérite.

Les résultats de ces expériences autorisent à dénier toute valeur diagnostique à la réaction de fixation, en ce sens qu'elle ne permet pas de distinguer l'infection paratuberculeuse de l'infection tuberculeuse qui risquent d'être confondues jusqu'à l'apparition des symptômes pathognomoniques. Ils démontrent en outre que les anticorps décelés par l'antigène homologue et par l'extrait méthylique de bacilles de Koch ne progressent ni ne varient parallèlement.

L'antigène tuberculeux se montre toujours plus actif que l'antigène paratuberculeux. Sa supériorité paraît tenir, non pas uniquement à une plus grande abondance de substances fixatrices, — car les différences persistent même lorsqu'on emploie un excès d'antigène paratuberculeux, — mais surtout à leur

complexité. La communauté des antigènes extraits par l'alcool méthylique des bacilles acido-résistants se réfère donc à des substances appartenant à un même groupe chimique, en l'espèce les phosphatides. Quant à leurs différences quantitatives, elles relèvent de la structure moléculaire de ces lipoides autant que des caractères physiques de leurs émulsions colloïdales.

VI. — Propriétés réactionnelles et sensibilisantes

De même que la tuberculose, la morve, la mélitococcie et la plupart des maladies bactériennes et mycosiques subaiguës ou chroniques, l'entérite paratuberculeuse des bovidés s'accompagne d'une sensibilité générale et tissulaire, — du derme principalement — aux germes spécifiques et à leurs extraits. D'où la possibilité de dépister cette affection par les diverses réactions biologiques communément appliquées au diagnostic de la tuberculose.

Avant que F. W. Twort et Ingram eussent obtenu les cultures du bacille de Johne, divers expérimentateurs, dont O. Bang, Moussu, avaient préconisé l'emploi diagnostique de la tuberculine aviaire qui, injectée à haute dose sous la peau (0 c. c. 75 à 2 cent. cubes), provoque une réaction thermique caractéristique chez les bovidés atteints d'entérite hypertrophiante. Malheureusement, 21 p. 100 des bovidés tuberculeux réagissent également à cette substance, ce qui diminue considérablement sa valeur révélatrice.

F. W. Twort et Ingram lui ont substitué la « *johnine* » qui consiste en une suspension homogène de bacilles de Johne cultivés en bouillon glyceriné (voiles de cultures âgées de trois à six mois) et stérilisés par le chauffage pendant une demi-heure à 62°. Les bovidés paratuberculeux qui reçoivent sous la peau quelques centimètres cubes de cette suspension bacillaire présentent une réaction thermique dont le maximum se produit de la 6^e à la 7^e heure. Cette réaction doit être considérée comme positive lorsqu'elle dépasse 1°2.

Par la suite, Mac Fadyean, Edwards et Sheather ont préparé une *paratuberculine* en émulsionnant, dans l'eau glycerinée à 5 p. 100, des bacilles de l'entérite cultivés en milieu

liquide et lavés à plusieurs reprises pour éliminer toute trace d'extrait de bacilles de la fléole, puis chauffés deux fois à 113° et à 140°. 40 cent. cubes de cette paratuberculine correspondent à 1 centigramme de bacilles frais.

II. Vallée et P. Rinjard emploient avec succès, en injection intradermique, une paratuberculine « obtenue complètement à froid par extraction dans l'eau distillée des substances actives des corps microbiens et des milieux de culture »; après quoi les bacilles sont séparés par filtration sur bougie Chamberland L₁.

Nous mettons également à la disposition des vétérinaires une *johnine* préparée, comme la tuberculine, en concentrant au 1/10, au bain-marie, des cultures de bacilles de Johnne sur milieu de Sauton, âgées de dix semaines. L'expérience nous a démontré que la présence d'une petite quantité d'extrait de bacilles de la fléole, ajoutée à ce milieu pour favoriser le développement des germes, ne modifie nullement ses propriétés.

Injectée sous la peau, la *johnine*, quel que soit le mode de sa préparation, provoque, chez les bovidés atteints d'entérite paratuberculeuse, une hyperthermie plus ou moins accentuée. En injection intradermique, elle détermine une réaction locale, inflammatoire, caractéristique, sauf chez les sujets cachectiques (Vallée et Rinjard). L'instillation oculaire ne donne aucun résultat.

Mais la valeur pratique de ces réactions est très relative, car elles se manifestent avec la même intensité, la réaction thermique au moins, chez les animaux tuberculeux (Mac Fadyean, Edwards et Sheather). Cette absence de spécificité, si elle restreint le champ d'application de la paratuberculine, ne diminue en rien l'intérêt qui s'attache à son étude expérimentale. Elle traduit simplement, au même titre que les réactions sériques *in vitro*, la présence, dans les bacilles tuberculeux et le bacille de Johnne, d'antigènes communs, à la fois sensibilisants et réactionnels.

Comme les bovidés atteints d'entérite hypertrophiante, les cobayes inoculés avec une dose massive (100 à 150 milligrammes) de bacilles de Johnne vivants, par la voie péritonéale, deviennent simultanément hypersensibles à la *johnine*, à la tuberculine des bacilles des mammifères et, plus encore, à la tuberculine

des bacilles aviaires. Injectée dans le derme, à la dose de 0 c. c. 1 d'une dilution au 1/10, quinze à vingt jours après l'inoculation bacillaire, la johnine provoque, en effet, une réaction locale sous la forme d'une papule œdémateuse qui débute vers la dix-huitième heure, atteint son intensité maximum de la vingt-quatrième à la quarante-huitième heure sans aboutir généralement à la nécrose, puis s'efface peu à peu. L'intradermotuberculation, effectuée en même temps et à la même dose, est suivie d'une réaction plus étendue, plus durable, souvent hémorragique et parfois nécrotique. Cette réactivité du derme persiste plus de huit mois chez la moitié des cobayes inoculés.

Les lapins sensibilisés par une inoculation intraveineuse de 60 à 80 milligrammes de bacilles de l'entérite réagissent par une hyperthermie, qui dépasse 4° vers la cinquième heure, à l'injection intraveineuse de 0 c. c. 1 à 0 c. c. 5 de *johnine* ou de 0 c. c. 2 de *tuberculine brute* et de *tuberculine aviaire*.

Réciproquement, l'injection intradermique de 0 c. c. 2 de johnine en solution à 1 p. 10 provoque, chez le cobaye tuberculeux, une réaction papuleuse typique, mais de faible intensité. Les lapins tuberculisés depuis deux mois réagissent par une hyperthermie de 0°5 à 0°7 à l'injection intraveineuse de 0 c. c. 5 de johnine; il faut injecter 0 c. c. 7 de cette substance pour obtenir une réaction thermique supérieure à 1°.

Bien que ces diverses manifestations démontrent leur hypersensibilité, les cobayes et les lapins tuberculeux, ou préparés par une inoculation antérieure, massive, de bacilles de l'entérite, supportent, sans autre dommage qu'une fièvre passagère, 1 c. c. 5 de johnine brute en injection sous-cutanée (cobayes) et 1 cent. cube en injection intraveineuse (lapins). De même, les cobayes sensibilisés par le bacille de Johnne résistent à l'injection sous-cutanée de 1 cent. cube de tuberculine brute, humaine, bovine ou aviaire, contrairement à l'opinion de Meyer, soit environ quatre doses mortelles pour le cobaye tuberculisé depuis plus de six semaines.

D'où l'on peut conclure que, si la *johnine* renferme des substances réactionnelles analogues à celles de la tuberculine, elle diffère de cette dernière par l'absence de l'élément toxique qui entraîne la mort des animaux tuberculeux.

Enfin, l'hypersensibilité conférée par le bacille de l'entérite

peut encore être mise en évidence par le *phénomène de Koch* que provoque la réinoculation intradermique ou sous-cutanée de bacilles tuberculeux. Chez les cobayes qui ont reçu depuis vingt jours 100 milligrammes de bacilles de Johne par la voie péritonéale, une réaction cutanée précoce se manifeste non seulement après l'inoculation intradermique de ces germes, mais aussi après l'inoculation d'une dose égale de bacilles tuberculeux et de bacilles de la fléole; toutefois la réaction est plus accentuée et plus franchement nécrotique avec les bacilles de Koch. Les cobayes tuberculeux réagissent également par un phénomène de Koch à l'inoculation intradermique de 10 à 20 milligrammes de bacilles de Johne; mais la nécrose du derme est moins étendue qu'avec les bacilles spécifiques.

Depuis les expériences de Bail, qui d'ailleurs sont fondées sur la découverte par R. Koch et par S. Arloing de la toxicité des corps microbiens homologues à l'égard des animaux tuberculeux, on sait que l'injection intrapéritonéale d'une dose massive (20 à 50 milligrammes) de bacilles de Koch vivants ou morts, à des cobayes infectés depuis plusieurs semaines, provoque, non pas un choc anaphylactique immédiat, mais une hypothermie et des signes généraux qui expriment une intoxication progressive et se terminent par la mort en quelques heures. A dose égale et chez des animaux infectés dans les mêmes conditions, depuis le même temps, la gravité et la rapidité de ces troubles donnent la mesure de la toxicité des corps microbiens.

Or, les cobayes tuberculisés depuis vingt à soixante jours par inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 001 de bacilles de Koch et les cobayes sensibilisés par les bacilles de l'entérite (20 à 30 milligrammes par la voie péritonéale) résistent à l'injection intrapéritonéale de 100 à 150 milligrammes de ces derniers germes. Par contre, les uns et les autres succombent en huit à quinze heures après l'injection de 80 milligrammes de bacilles tuberculeux vivants ou d'une *dose double* de bacilles tués. Leur sensibilité est donc équivalente, mais elle ne se manifeste dans toute son ampleur que lorsqu'elle est mise en jeu par les protéines plus toxiques du bacille tuberculeux.

La progression de cette hypersensibilité aux corps microbiens peut être aisément suivie chez le cheval, bien qu'il soit réfrac-

taire à l'entérite paratuberculeuse. Lorsqu'on inocule par la voie veineuse, à un animal de cette espèce, 10 milligrammes de bacilles de Johne tués par un chauffage de trente minutes à 68-70°, on observe seulement une légère hyperthermie de 0°5 qui se produit de la vingt-quatrième à la quarante-huitième heure, puis disparaît. Une deuxième injection intraveineuse de 15 milligrammes des mêmes microbes chauffés, effectuée six jours après, provoque, au contraire, une réaction fébrile qui débute *quelques heures* après l'injection, atteint son maximum vers la huitième (1°6), persiste pendant vingt-quatre heures, puis s'atténue rapidement. Toutes les injections ultérieures, pratiquées à six ou huit jours d'intervalle, avec des doses croissantes de bacilles morts ou de bacilles vivants, sont suivies des mêmes manifestations, à ce détail près qu'avec les doses massives (90 milligrammes) la fièvre n'atteint son acmé qu'à la vingt-quatrième heure (2°5) et que la température revient plus lentement à la normale (troisième jour).

Notre animal d'expérience a parfaitement supporté deux séries d'injections intraveineuses dans un délai de neuf mois, et il a reçu au total 800 milligrammes de bacilles de Johne. On notait seulement, pendant la période réactionnelle, un peu d'abattement, de la congestion des muqueuses, une accélération du pouls et un essoufflement plus ou moins accentué. Il mourut cependant, à la suite d'une injection intraveineuse de 100 milligrammes de ces microbes, en pleine hyperthermie (2°6), dans les mêmes délais (douze heures) et avec les mêmes symptômes (œdème pulmonaire) que les chevaux sensibilisés par des bacilles tuberculeux auxquels on injecte une dose excessive de germes homologues ou de tuberculine.

Ainsi, sauf une légère restriction concernant l'intensité des phénomènes, l'*hypersensibilité des animaux infectés par le bacille de Johne se comporte comme celle des animaux tuberculeux* : anaphylaxie douteuse ou faible, mais réactivité très accusée aux bacilles homologues, aux bacilles paratuberculeux et aux extraits de ces microbes. Il existe donc, dans ces différents germes, pathogènes ou non, des substances similaires, à la fois préparantes et réactionnelles, comparables dans leurs rapports aux antigènes lipoidiques ou lipoprotéiques qui interviennent dans les réactions d'anticorps *in vitro* et *in vivo*.

Cette hypersensibilité se développe presque au même degré chez les animaux réceptifs et chez les animaux réfractaires. Par conséquent, elle n'est pas proportionnelle, comme on l'a supposé pour l'hypersensibilité tuberculinique, à l'étendue et à la gravité des lésions spécifiques.

Sans doute, les altérations tissulaires initiales, engendrées par le bacille de Johne, se traduisent également par l'accumulation de cellules épithélioïdes et de cellules géantes; mais elles restent diffuses et, réserves faites pour la chèvre, *n'aboutissent jamais à la production de tubercules vrais, évoluant vers la dégénérescence caséuse et l'ulcération*. Nous trouvons dans ces faits une confirmation de l'hypothèse que nous avons émise avec L. Nègre, à savoir que *l'hypersensibilité dans les affections tuberculeuses ou paratuberculeuses et dans toutes les maladies microbiennes chroniques dépend non pas du type histologique des réactions d'infection spécifiques, mais d'une modification profonde et directe, cellulaire et humorale des organismes imprégnés par les protéines bacillaires*.

VII. — Propriétés immunisantes.

L'étude des propriétés immunisantes du bacille de Johne est rendue difficile par le prix élevé des animaux réceptifs : bœuf, mouton, chèvre. D'autre part, l'infection expérimentale de ces animaux échoue fréquemment; lorsqu'elle se produit, elle évolue avec une très grande lenteur et ne se révèle que dans ses derniers stades, par la cachexie. Enfin, les ganglions lymphatiques superficiels, dont l'hypertrophie et la caséification dénoncent précocement l'infection tuberculeuse, ne réagissent pas au microbe de l'entérite introduit sous la peau.

Inoculé au bœuf dans le tissu conjonctif sous-cutané, même à doses massives, le bacille de Johne n'offre, en effet, aucune tendance à pénétrer dans les voies lymphatiques et sanguines et, par leur intermédiaire, à atteindre la muqueuse intestinale : l'infection reste locale et se traduit uniquement par un abcès froid ou par une induration scléreuse qui se résorbent spontanément.

Depuis plusieurs années, H. Vallée et P. Rinjard essaient

de prémunir les bovidés contre l'entérite à la faveur de cette lésion locale, torpide, limitée et inoffensive. Leur technique consiste à inoculer, sous la peau de la région cervicale, 5 à 10 milligrammes de germes spécifiques vivants, mis en suspension dans un excipient irrésorbable, composé d'huile de vaseline et de grès porphyrisé. L'œdème chaud et douloureux que provoque cette injection se résout peu à peu en un petit foyer induré dont le centre se caseifie ultérieurement, mais ne s'ulcère pas.

Miessner et Kohlstock avaient également tenté de vacciner les animaux réceptifs en leur injectant une émulsion de ganglions infectés traités par l'antiformine (*entéritidine*), mais leur méthode n'est pas entrée dans la pratique.

Le caractère des relations qui existent entre le bacille de Johné et le bacille de Koch au point de vue de leur composition chimique et de leurs propriétés antigènes conduit naturellement à étudier leurs propriétés immunisantes réciproques.

Déjà, O. Bang et Mac Fadyean avaient cru remarquer un certain antagonisme dans l'action pathogène de ces microbes : les bovidés tuberculeux se montreraient moins réceptifs que les animaux normaux à l'entérite hypertrophiante, et les animaux atteints d'entérite résisteraient dans une mesure très appréciable à l'infection tuberculeuse. Et Holth concluait de ses recherches que les cobayes auxquels on injecte une forte dose de bacilles de Johné survivent aux témoins après l'inoculation de bacilles de Koch.

Mais nos expériences contredisent cette affirmation : tous les cobayes que nous avons éprouvés par l'inoculation sous-cutanée de 0 milligr. 0001 de bacilles tuberculeux, trente jours au minimum après l'injection intrapéritonéale ou sous-cutanée de 30 à 100 milligrammes de bacilles de l'entérite, sont morts dans les mêmes délais et avec les mêmes lésions de tuberculose généralisée que les témoins (1). *Bien qu'ils fussent hyper-*

(1) A. Richard nous a dernièrement signalé que deux vaches, vaccinées à plusieurs reprises, depuis leur naissance, par le BCG de Calmette et Guérin, *sont restées totalement indemnes de tuberculose, mais ont contracté l'entérite hypertrophiante*. La muqueuse de leur intestin grêle et leurs ganglions mésentériques contenaient un nombre énorme de bacilles acido-résistants et des cobayes, inoculés avec des fragments de ces organes, n'ont présenté ultérieurement aucune lésion tuberculeuse.

sensibles à la tuberculine et à la johnine avant l'épreuve virulente, la résistance de ces animaux à l'infection tuberculeuse était donc nulle.

Dût-elle se borner à ce fait, l'étude comparative de l'allergie ne serait pas dénuée d'intérêt, car elle montre que, si les propriétés sensibilisantes du bacille de Johnne et du bacille de Koch vont de pair avec leurs propriétés antigènes, *l'immunité que confèrent ces microbes est plus étroitement spécifique.* Elle ajoute enfin une preuve nouvelle à cette notion que *l'hypersensibilité aux extraits bacillaires et la résistance aux surinfections représentent deux phénomènes distincts, deux modes réactionnels indépendants des organismes infectés.*

(Laboratoire du Professeur Calmette,
à l'Institut Pasteur.)

BIBLIOGRAPHIE

- ARLOING (S.), Des troubles déterminés sur les sujets tuberculisés par des inoculations de bacilles de Koch en émulsion et par des injections de tuberculine. *Journ. Phys. et Path. génér.*, **5**, 1903, 677.
- BAIL (O.), Der akute tod von meerschweinschen an tuberkulose. *Wien. klin. Wochens.*, **18**, 1903, 211.
- BANG (B.), Chronische pseudotuberkulöse darmentzündung beim Rinde. *Berlin. Tierartz. Wochens.*, 1906, 759; Die spezifische chronische enteritis des Rindes. IX^e Congrès Vétér. Internat., La Haye, 1909; Kvaegets smitsomme kroniske tarmbetaendelse. 66^{de} Beret. fra den Kgl. Veter. or Landboh. Laborat., janvier 1910.
- BANG (O.), Om anvendelse af tuberkulin af fjerakraetuberkelbaciller som diagnostik middel vad kvaegets kron. smits. tarmbetaendelse. 66^{de} Beret. fra den Kgl. Veter. or Landboh. Laborat., janvier 1910.
- BANG (O.) et ANDERSEN (C.), Einige untersuchungen über complement bindende antistoffe bei experimenteller und spontaner tuberkulose sowie bei paratuberkulöser darmentzündung. *Centralb. f. Bakter.*, **69**, 1913, 617.
- BOQUET (A.), Sur les propriétés pathogènes du bacille de Johnne (entérite hypertrophiante des bovidés) à l'égard du rat blanc et de la souris blanche. *C. R. Soc. Biol.*, **93**, 1925, 219; Sur les propriétés biologiques du bacille acido-résistant de Johnne. *Ibid.*, **96**, 1927, 844; Sur la culture du bacille acido-résistant de Johnne. *Ibid.*, **97**, 1927, 43.
- BOQUET (A.) et NÈGRE (L.), Sur les propriétés biologiques des lipoides du bacille de Koch. *Ces Annales*, **37**, 1923, 789; Sur l'hypersensibilité aux tuberculines et aux bacilles de Koch dans la tuberculose expérimentale. *Ces Annales*, **40**, 1926, 11.
- CARNEIRO (V.), Contribution à l'étude de l'entérite chronique hypertrophiante des bovins. *Thèse pour le doctorat vétérinaire*, Paris, 1925.

- FADYEAN (J. Mac), Johne's disease : a chronic bacterial enteritis of cattle. *Journ. of the Roy. Agric. Soc. of England*, 1907, 206; *Journ. of comp. path. and therap.*, 20, 1907, 48; The histology of Johne's disease. *Ibid.*, 31, 1918, 73.
- FADYEAN (J. Mac) et SHEATHER (A. L.), The experimental transmission of Johne's disease to cattle, sheep and goats. *Journ. of comp. path. and therap.*, 29, 1916, 62.
- FALYEAN (J. Mac), SHEATHER (A. L.) et EDWARDS (J. T.), Johne's disease : 1° Record of examination of natural cas. *Journ. of comp. Path. and therap.*, 25, 1912, 247; 2° Cultural characters of the bacilli. *Ibid.*, 25, 1912, 275; The reactions of animals to johnine. *Ibid.*, 29, 1916, 434 et 201.
- HOLTH (H.), Reinzüchtung des bazillus der spezifischen chronischen darmentzündung des Rindes (Paratuberkelbazillus). *Zeits. für Infekt. Paras. und Hyg. des Haustiere*, 11, 1912, 378.
- JOHNE et FROTHINGHAM, Ein eigentümlicher fall von tuberkulose beim Rinde. *Deuts. Zeits. f. Tiermed.*, 21, 1895, 438.
- LECLAINCHE (E.), L'entérite hypertrophiante des bovidés. *Rev. génér. de Méd. Vét.*, 9, 1907, 598.
- LIENAU, Sur la nature tuberculeuse de l'entérite hypertrophiante diffuse du bœuf. *Ann. Méd. Vét.*, 1907, 433.
- LIENAU et EECKHOUT (van den), Contribution à l'étude d'une entérite tuberculeuse spéciale et de la diarrhée chronique du bœuf. *Ann. Méd. Vét.*, 1905, 65 et 125.
- MALM, Om den specifike kroniske tarmbetaendelse hos kvaaget. *Norsk Veterin., Tidss.*, 1911, 209.
- MARKUS, Een specifieke darmonsteking bij het rund waarschijnlijk van tuberkuleusen aard. *Tijds. voor Veerarts.*, 1903, 195; Eine spezifische darmentzündung des rindes wahrscheinlich tuberkulöser natur. *Zeits. f. Tiermed.*, 8, 1904, 68; Die spezifische chronische enteritis des rindes. IX^e Congr. Internat. Vét., La Haye, 1909.
- MAYER (K. F.), The specific paratuberculosis enteritis of cattle in America. *Journ. of Med. Research.*, 29, 1913, 147.
- MIESSNER et KOHLSTOCK, Immunisierungsversuche beim chronischen infektiösen darmkatarrh. *Berl. Tierartz. Wochens.*, 1912.
- MIESSNER et TRAPP, Der chronische infektiöse darmkatarrh des rindes. *Mitt. d. Kais. Wilh. Institut f. Landwirts. im Bromberg.*, 2, 1910, 219.
- MORIN (H.-G.), Histologie des localisations péritonéales du bacille de Johne. *C. R. Soc. de Biol.*, 93, 1925, 1405; Premières lésions viscérales déterminées chez le rat par l'inoculation du bacille de Johne. *Ibid.*, 93, 1925, 1575.
- MORIN (H.-G.) et VALTIS (J.), Sur la filtration du bacille de Johne à travers les bougies Chamberland L. *C. R. Soc. Biol.*, 94, 1926, 39.
- NÈGRE (L.) et BOQUET (A.), Recherches sur la valeur antigène des émulsions bacillaires et des extraits éthyliques et méthyliques de bacilles tuberculeux. *Ces Annales*, 35, 1924, 300.
- PANISSET (L.) et VERGE (J.), La réaction de déviation du complément dans le diagnostic de la tuberculose des animaux domestiques. *Ces Annales*, 36, 1922, 690; Recherches sur l'entérite hypertrophiante des bovidés. *Rev. génér. de Méd. Vét.*, 33, 1924, 485.
- PANISSET (L.), VERGE (J.) et CARNEIRO (V.), Nouvelles recherches sur l'entérite hypertrophiante des bovidés. *Rec. Méd. Vét.*, 102, 1926, 521.

- RICHART (A.), *Rapport sur les opérations des services sanitaires vétérinaires*, Rouen, 1926.
- SEIDEMANN (S.), John's disease of sheep. *Journ. of comp. path. and therap.*, **24**, 1911, 66.
- TESSIER (T.) et AVERY (O.), Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. *Journ. of exper. med.*, **34**, 1921, 97.
- TWORT (C. G.), The agglutination and complement fixation reactions in animals experimentally inoculated with John's bacillus. *Centralb. f. Bakter.*, **66**, 1912, 316.
- TWORT (C. G.) et CRAIG (T.), The pathogenicity of John's bacillus compared with that of others acid fast bacilli for some of the laboratory animals. *Centralb. f. Bakter.*, **68**, 1913, 455.
- TWORT (F. W.) et INGRAM (G. L.), A method for isolating and cultivating the *Mycobacterium enteritidis chronicæ pseudotuberculosis bovis* John's and some experiments on the preparation of a diagnostic vaccine for pseudotuberculosis enteritis of bovines. *Proceed. Roy. Soc.*, **84**, 1912, 317; Further experiments with the *Mycobacterium enteritidis chronicæ pseudo-tuberculosis* John's and with vaccines prepared from this micro-organism. *Centralb. f. Bakter.*, **67**, 1912, 126; Further researches on John's disease. *Veterin. Rec.*, 14 sept. 1912; A monography of John's disease (*Enteritidis pseudotuberculosis bovis*). Londres, Baillière, Tyn-dall and Cox, 1913.
- VALLÉE (H.) et RINJARD (P.), Études sur l'entérite paratuberculeuse des bovidés. *Rev. Génér. de Méd. Vét.*, **35**, 1926, 1.
- VAN DER SLUYS. *Congrès des vétérinaires hollandais*. Utrecht, septembre 1912.
- WILDIERS. *La Cellule*, **18**, 1901, 313.

LE BACILLE DE L'ADÉNITE CERVICALE BÉNIGNE DU COBAYE

par RENÉ VINZENT.

Il existe une maladie des cobayes qui semble avoir été méconnue jusqu'à présent, ou tout au moins confondue avec la pseudo-tuberculose de ces rongeurs. Elle se caractérise le plus souvent par un seul symptôme : une volumineuse adénopathie sous-glossienne ou cervicale. Comme elle apparaît dans les élevages où sévit aussi la pseudo-tuberculose qui peut provoquer une adénite semblable, on comprend que les deux infections aient été confondues.

Toutefois, depuis longtemps, des observateurs, et en particulier Ramon (1), avaient remarqué que dans le pus de certaines adénites des cobayes il était absolument impossible de déceler le bacille de Malassez et Vignal, tant par l'examen microscopique que par les ensemencements. C'est même une notion ancienne courante que le bacille pseudo-tuberculeux est parfois impossible à isoler dans certaines collections ganglionnaires purulentes.

Nous allons voir que les adénites dites aseptiques du cobaye sont en réalité causées par une bactérie spéciale qui ne peut se développer qu'à l'abri de l'oxygène et dans des milieux additionnés de sérosité, conditions indispensables à son isolement qui expliquent qu'il ait échappé aux investigations antérieures.

Nous avons isolé ce microbe dans les conditions suivantes :

Il y a deux ans environ, nous eûmes l'occasion d'inoculer à un cobaye du pus provenant d'un abcès froid humain; trois semaines après, le ganglion correspondant à la région inoculée fut prélevé, il était très augmenté de volume et à l'incision il s'en échappa du pus. L'examen de ce pus ne montrant la présence d'aucun bacille tuberculeux, le produit fut ensemencé sur différents milieux aérés et aussi dans de la gélose Veillon

(1) Ces *Annales*, 28, 1914, p. 585.

additionnée de sérum et d'extrait globulaire, selon la technique de Legroux. Après une incubation de vingt-quatre heures à 37°, les tubes de gélose Veillon montrèrent seuls un développement abondant de colonies extrêmement petites, situées uniquement dans la zone d'anaérobiose et constituées par le microbe que nous allons décrire (1).

Plus tard, en étudiant des adénites cervicales survenues dans l'élevage des cobayes, nous fûmes frappé de reconnaître la présence du même microorganisme. Nous avons ainsi obtenu de nombreuses souches qui ont toutes des caractères semblables.

Caractères morphologiques.

Le microbe de l'adénite bénigne du cobaye est un petit bâtonnet très fin, parfois légèrement incurvé, fréquemment disposé en chaînettes, immobile et ne formant pas de spores; il se décolore par la méthode de Gram.

Dans les *produits pathologiques*, surtout s'il s'agit de collections purulentes anciennes, les bacilles sont rares et difficiles à distinguer des débris cellulaires. A ce point de vue, la coloration par la thionine phéniquée semble faciliter leur recherche. Ils se présentent (fig. 1) isolément ou disposés en V ou en chaînettes; d'autres fois, ils ont l'aspect de filaments incurvés en S ou même ondulés; ces filaments sont homogènes ou formés par une succession d'éléments irréguliers dont la taille varie d'une fraction de μ à plusieurs μ . Dans les produits pathologiques récents, en outre des aspects précédents, on trouve de gros amas de bacilles enchevêtrés en un véritable feutrage.

In vitro, dans les *milieux liquides* additionnés de sérum, les cultures jeunes sont constituées par des bâtonnets très courts (1μ à $1\mu 5$ de long, sur $0\mu 3$ à $0\mu 5$ de large), dans lesquels on peut distinguer un très petit espace clair médian. Les éléments sont isolés, disposés en diplobacilles, en chaînettes ou en gros amas (fig. 2). Les cultures âgées montrent des formes filamenteuses longues et fines ou, au contraire, des formes courtes et

(1) Le cobaye mourut deux mois plus tard d'infection tuberculeuse, aussi pouvons-nous considérer le microbe anaérobie comme un germe de sortie du cobaye localisé à la faveur du traumatisme de l'inoculation.

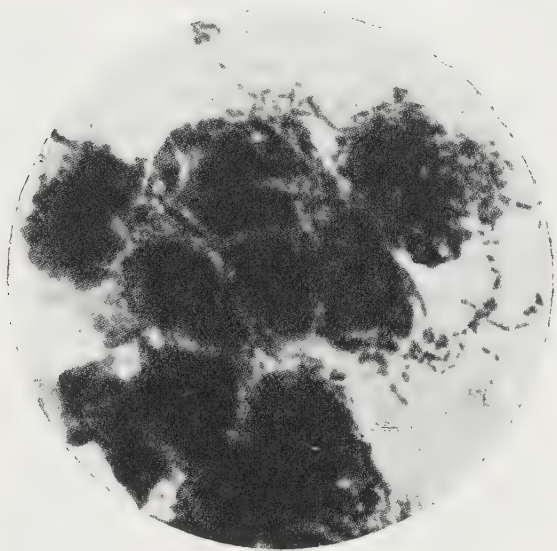


FIG. 1.

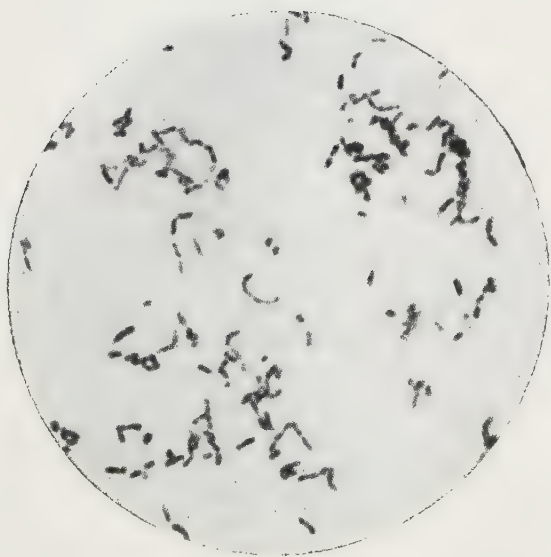


FIG. 2.

étalées, formes d'involution semblables à celles qui ont été observées pour d'autres bactéries.

En *gélose Veillon-sérum*, l'aspect est tout différent : on trouve presque uniquement des filaments plus ou moins longs et incurvés, ondulés, qui, à un examen rapide, paraissent posséder des ramifications ou des bourgeons latéraux (fig. 3). Un tel aspect rappellerait ce qui a été décrit chez les *Cohnistrepto-*

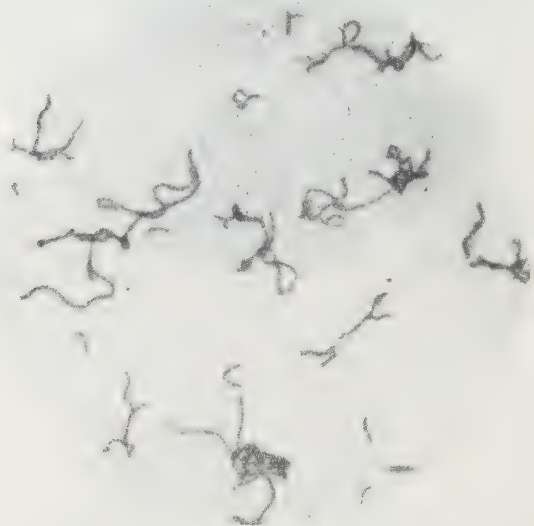


FIG. 3.

thrix; mais, avec un peu d'attention, on peut voir qu'il existe par endroits un intervalle très net entre le filament principal et les éléments latéraux (1).

D'autre part, dans certaines conditions, les colonies déve-

(1) Nous verrons ultérieurement que dans les milieux liquides cette bactérie pousse agglutinée. Les conditions qui favorisent l'accolement des éléments sont encore plus efficaces dans la gélose profonde où le développement est plus lent; les colonies qui se sont développées dans une gélose pauvre en sérosité sont excessivement difficiles à dissocier et montrent alors au maximum les aspects de ramification dont nous venons de parler. On est donc en droit de penser que ces formes de streptothricées sont dues simplement à l'accolement, par une sorte de gangue, de bacilles indépendants, de même que les pseudo-bourgeons latéraux correspondraient à des boucles de filaments, ou encore au chevauchement d'éléments distincts.

loppées en gélose Veillon peuvent être formées par des chaînettes d'éléments absolument distincts, simulant encore, quoique beaucoup plus grossièrement, les formes de *Streptothricées*.

En résumé, l'agent de l'adénite bénigne du cobaye doit être considéré comme un bacille. En raison de son aspect fréquent en chaînette et de la maladie qu'il provoque chez le cobaye, nous proposons d'appeler ce microbe : *Streptobacillus caviæ*.

Caractères de cultures.

Nous avons déjà dit que ce microbe est *anaérobie strict et qu'il ne croît que dans les milieux additionnés de sérum*.

La température optima de développement est de 37°. Audessous, il pousse bien encore, mais plus lentement.

En gélose Veillon, après vingt-quatre heures d'incubation, les colonies sont punctiformes, elles sont bien visibles après quarante-huit heures et grossissent les jours suivants, jusqu'à atteindre 2 millimètres de diamètre; elles sont nettement lenticulaires ou d'aspect cunéiforme. Elles sont formées par un amas compact de corps microbiens difficiles à dissocier, surtout si le milieu est pauvre en sérosité.

Sur gélose inclinée, à l'abri de l'air, on observe après quarante-huit heures le développement de petites colonies translucides, faiblement surélevées, à contour circulaire, régulier. Les colonies adhèrent au milieu sans y pénétrer.

En bouillon, la culture présente un aspect caractéristique : après vingt-quatre heures on voit des petits grumeaux blanchâtres, accolés à la paroi du tube ou sédimentés au fond. Le liquide reste absolument limpide. En vieillissant, les grumeaux s'accroissent, des prolongements plus ou moins effilés apparaissent à la périphérie et leur donnent l'aspect d'étoiles. Aucune odeur ne se dégage.

En eau peptonée, les caractères sont semblables, il n'y a pas production d'indol.

La gélatine additionnée de sérum constitue un excellent milieu; elle n'est pas liquéfiée.

L'albumine d'œuf, le sérum coagulé ne sont pas digérés.

Dans le lait, la culture est abondante, sans modification du milieu.

Les hydrates de carbone ne sont pas attaqués, le rouge-neutre n'est pas modifié.

La gélose nutritive contenant du sous-acétate de plomb ne noircit pas le long du trait d'ensemencement.

Ce bacille ne secrète ni toxine ni hémolysine.

Résistance et conservation.

Le bacille de l'adénite bénigne du cobaye ne donne pas de spores. Le meilleur milieu de conservation semble être constitué par de la gélatine nutritive au sérum, gardée à l'abri de l'oxygène; le bacille y reste vivant plusieurs mois.

Il est peu résistant aux agents physiques : il est détruit par un chauffage de cinq minutes à 55°.

Pouvoir pathogène.

A. — LA MALADIE SPONTANÉE DU COBAYE.

L'adénite cervicale bénigne du cobaye existe à l'état enzootique dans l'élevage de l'Institut Pasteur, à Garches. Elle paraît au contraire rare chez les éleveurs particuliers. Les poussées épizootiques surviennent principalement en été et au début de l'automne. Dans plusieurs cages à la fois, on remarque des cobayes dont l'aspect caractéristique attire l'attention; les animaux présentent une grosse tuméfaction de la région cervicale, soit antérieure, soit latérale. A la palpation, on trouve une adénopathie plus ou moins volumineuse, selon que le début de la maladie est plus ou moins éloigné. Au début, les ganglions encore petits sont durs; ils grossissent assez rapidement et atteignent couramment le volume d'une noix. Un seul ganglion est atteint ou au contraire plusieurs, tantôt du groupe sous-glossien, tantôt du groupe cervical, ou des deux groupes à la fois. La collection est enkystée dans une membrane conjonctive très tendue; elle peut rester stationnaire plusieurs semaines,

mais la peau finit toujours par être ulcérée en un point par lequel le contenu s'échappe. Le pus est d'ordinaire très homogène, de consistance variable, légèrement teinté en jaune-vert. Quand la suppuration est terminée, la cicatrisation survient très vite. Pendant la maladie, l'état général des animaux n'est pas touché : ils mangent bien et augmentent normalement de poids.

Parmi les cobayes que nous avons examinés, il nous est arrivé d'en trouver qui étaient atteints à la fois d'adénite et d'abcès du museau. Dans cet abcès, le même microbe fut retrouvé à l'état de pureté. Mais, ce sont là des cas exceptionnels, sur lesquels on ne peut se baser pour établir le mode d'infection des animaux ; en règle générale, il est impossible de déceler la moindre lésion dans le territoire des ganglions atteints.

Sur les coupes de pièces prélevées à différentes périodes de l'infection, nous nous sommes assuré qu'il s'agissait bien d'une collection ganglionnaire et non d'un abcès simple développé dans le tissu cellulaire sous-cutané. On trouve, sous une coque conjonctive très épaissie, une lame de tissu lymphoïde, bordant un centre entièrement nécrosé. Dans le caséum, les bacilles sont difficiles à déceler, on peut cependant en trouver des amas assez volumineux situés surtout à la périphérie.

Il n'existe chez les animaux aucune lésion des viscères.

B. — REPRODUCTION EXPÉRIMENTALE DE LA MALADIE DU COBAYE.

L'agent de l'infection épizootique que nous venons de décrire est essentiellement un *microbe pyogène*. En quelque point qu'on l'inocule au cobaye, il détermine toujours un abcès dur, limité. Cet abcès s'ouvre après un temps variable et l'animal guérit.

Pour reproduire les localisations ganglionnaires de la maladie spontanée, il est indispensable d'inoculer les animaux soit sous la conjonctive palpébrale, soit dans les parois buccales.

L'injection *sous-conjonctivale* détermine un abcès de la paupière, accompagné d'œdème de la joue. L'abcès s'ouvre au bout de trois ou quatre jours, soit par la face interne de la paupière, en empruntant l'orifice d'inoculation, soit par la face externe. L'œil, recouvert de pus, présente passagèrement de la kératite. Le ganglion angulo-maxillaire devient perceptible et augmente lentement de volume ensuite.

L'injection dans les tissus de la *joue* provoque la formation d'un abcès qui se fistulise dans les parties déclives. Les ganglions sous-glossiens commencent à être volumineux au bout d'une semaine, en même temps que les ganglions cervicaux correspondants.

Les animaux inoculés par l'une ou l'autre de ces voies guérissent toujours au bout d'un mois, un mois et demi, les ganglions n'atteignent jamais le volume qu'ils ont dans la maladie spontanée; nous les avons toujours vu régresser, sans aboutir à la collection purulente enkystée.

L'injection *intra-péritonéale* est suivie d'une péritonite adhésive chronique; les animaux succombent en trois semaines environ. On observe un amaigrissement marqué, l'abdomen est distendu; à la palpation, on perçoit de grosses masses dures dont une plus volumineuse, située dans l'hypocondre gauche et assez fréquemment décelable. A l'autopsie des animaux, on trouve, sur le trajet de l'inoculation, un abcès sous-cutané et un abcès de la paroi, la dissection de la paroi est impossible: les anses intestinales adhèrent au péritoine pariétal sur toute sa surface; le péritoine, d'un blanc nacré est épaissi, il est parsemé çà et là d'abcès de taille variable. L'épiploon, rétracté, renferme un volumineux abcès enkysté. Les viscères sont normaux, cependant le foie présente souvent des abcès; il existe aussi des collections sous-phréniques. Dans le pus, on retrouve le microbe en très grande abondance.

Le dépôt de culture sur la *conjonctive* saine ainsi que l'ingestion restent sans effet, même si l'on ajoute aux aliments des particules susceptibles de léser les épithéliums, telles que du coton de verre par exemple.

C. — POUVOIR PATHOGÈNE SUR LE LAPIN.

Chez le lapin, le bacille conserve son caractère pyogène, mais alors que l'infection évolue chez le cobaye sous un mode *aigu* le lapin fait une suppuration *chronique*.

L'inoculation sous-cutanée est suivie d'un empâtement de la région inoculée. Au bout de trois à quatre jours, une *pustule* apparaît au point où l'aiguille a traversé les téguments; elle augmente rapidement de volume. En même temps, un abcès

se développe sous la peau. Au bout de quinze jours à trois semaines, la pustule et l'abcès tendent à se fondre et à s'ulcérer, soit en un point limité, soit par élimination de toute une plaque cutanée sphacélée. Il s'échappe un pus très épais, mastic, en très grosse quantité. Au bout de quelques semaines, l'*ulcération* se ferme, mais les ganglions tributaires augmentent de volume, de petits nodules sous-cutanés réapparaissent. On assiste à la formation d'un nouvel abcès énorme qui peut atteindre le volume d'une orange. Fait remarquable, l'animal ne maigrit pas; nous avons pu garder des animaux dans cet état pendant plus d'un an, ils finissaient par succomber au moment où des épizooties survenaient dans l'élevage, sans que l'infection pyogène inoculée ait paru amoindrir leur résistance.

Les animaux jeunes paraissent beaucoup plus sensibles et nous avons observé des cas de mort. Chez un jeune lapin inoculé sous la peau de la cuisse, apparut un abcès du poumon droit; cet organe se transforma rapidement en un énorme bloc caséeux qui comprimait totalement le cœur et le poumon gauche. Chez un autre animal inoculé de la même façon, un abcès se développa assez tardivement dans l'angle antérieur du maxillaire inférieur. L'ostéite et l'alvéolite consécutive des deux incisives déterminèrent la mort de l'animal par inanition.

L'inoculation *intraveineuse* est à peu près toujours mortelle. Elle détermine, au bout de trois à quatre jours, l'apparition de *pustules cutanées* multiples.

Fréquemment aussi, on observe des arthrites avec localisations électives aux pattes. Un de nos animaux présenta une paraplégie; à l'autopsie, on trouva l'apophyse épineuse de la vertèbre lombaire très épaissie et creusée de cavités contenant du pus; la collection bombait sous la dure-mère et écrasait la moelle contre le corps vertébral.

Deux formes d'évolution peuvent alors se présenter :

Dans la forme *aiguë*, l'animal maigrit et meurt au bout de trois à quatre semaines avec des symptômes d'asphyxie. La lésion pulmonaire est *caractéristique* : les poumons adhèrent à la plèvre et apparaissent bourrés de nodules de toutes tailles, pouvant atteindre un demi-centimètre de diamètre. Ces nodules sont durs et s'énucléent facilement. On peut en outre ren-

contrer des abcès dans les autres viscères. Le foie et le rein sont d'ordinaire congestionnés.

Dans la forme *subaiguë*, les pustules disparaissent après quelques semaines, mais les ganglions s'hypertrophient, des collections sous-cutanées peuvent se former. Au bout de quatre à six mois, l'animal maigrit, puis succombe en présentant encore des phénomènes asphyxiques. A l'autopsie, on trouve les poumons transformés en véritables grappes d'abcès dont le volume égale celui d'un grain de raisin.

Au point de vue histologique, le processus infectieux est le suivant : les abcès se développent dans le parenchyme pulmonaire, avec une plus grande fréquence dans les régions corticales de l'organe; ils sont constitués par des zones concentriquement disposées de dehors en dedans :

Une zone périphérique congestive avec de nombreux éléments réactionnels;

Une zone à lymphocytes et surtout à plasmocytes;

Une zone à gros éléments, où prédominent des cellules épithélioïdes arrondies et des polynucléaires; des cellules géantes peuvent se former aux dépens des cellules épithélioïdes;

Au centre, une zone plus ou moins grande, formée des cellules de la couche précédente mais à noyau pycnotique et en dégénérescence acidophile.

Autour des nodules, le poumon peut être soit normal, soit congestif, soit œdémateux. En certains points, on voit des lésions d'alvéolite, où prédominent des éléments qui prennent le type épithélioïde; c'est là, probablement, le prélude de nodules définitifs.

D. — POUVOIR PATHOGÈNE POUR LES AUTRES ESPÈCES ANIMALES.

Le rat blanc et la souris sont sensibles à ce microbe : l'inoculation sous-cutanée de produits pathologiques ou de cultures détermine la formation d'un abcès enkysté qui évolue lentement, puis s'ulcère et l'animal guérit.

La poule nous a toujours paru résister.

L'immunité dans l'infection à *Streptobacillus caviæ*.

Les cobayes guéris de la maladie spontanée, ou ceux dont la lésion expérimentale est cicatrisée restent sensibles à une nouvelle inoculation. Au niveau de l'injection, un abcès se développe, mais il évolue très vite vers la guérison, après avoir ulcéré ou non la peau.

Par un procédé qui fera l'objet d'une note ultérieure, nous avons pu guérir des lapins inoculés. Ces animaux se sont montrés protégés, très nettement, contre une nouvelle inoculation, en ce sens qu'ils ont guéri de leur deuxième lésion, au bout de quelques semaines. La troisième inoculation a été à peu près sans résultat.

Une condition paraît indispensable pour obtenir une bonne protection, c'est de laisser un intervalle suffisant entre chacune des inoculations.

Diagnostic différentiel avec la pseudo-tuberculose.

La maladie que nous venons de décrire est tout à fait différente de la pseudo-tuberculose. L'adénite qui la caractérise évolue spontanément vers la guérison; la maladie n'affecte pas l'état général des animaux et ne se généralise pas. La forme ganglionnaire cervicale de la pseudo-tuberculose est nettement différente : les animaux sont souvent amaigris, le pus contenu dans les collections ganglionnaires est moins homogène, d'un jaune plus foncé. Ces signes seuls seraient insuffisants, mais le pus prélevé, quoique contenant peu de bacilles (il est parfois impossible d'en déceler à l'examen microscopique), *donne toujours* naissance à une culture de bacilles de Malassez et Vignal, quand on l'ensemence soit en bouillon, soit sur gélose, en présence de l'air.

**Pouvoir pathogène du *Streptobacillus caviæ*
en association avec d'autres bactéries pathogènes.**

Malgré tous nos essais, nous n'avons pas réussi, à l'aide de cultures pures, à reproduire chez le cobaye une infection superposable à la maladie naturelle. L'adénite obtenue n'atteignait jamais le volume qu'elle a couramment lors des épizooties. Dans des cas spéciaux, nous avons observé cependant des adénites typiques avec ulcération à la peau. Il s'agissait alors d'*infection mixte* obtenue à la suite de l'inoculation sous la peau de la cuisse du cobaye d'un mélange du streptobacille et de bacille tuberculeux. Dans ces cas, les ganglions cervicaux et surtout sous-glossiens devenaient très volumineux au bout d'un mois et finissaient par s'ouvrir. Dans le pus, on retrouvait uniquement le streptobacille anaérobie.

Le résultat de ces expériences suggère l'hypothèse que le bacille de l'adénite du cobaye ne pourrait s'installer qu'à la suite d'une première infection qui nous échappe encore. Les ganglions sous-glossiens ou cervicaux localiseraient de préférence ce microbe.

A cause de la coïncidence fréquente de la pseudo-tuberculose, nous nous sommes demandé si le bacille de Malassez et Vignal, d'une virulence atténuée, ne jouerait pas un rôle analogue au bacille tuberculeux. Nos expériences dans ce sens ont été négatives : les cobayes succombaient à la pseudo-tuberculose ou résistaient à l'inoculation mixte, mais jamais les ganglions cervicaux n'étaient envahis.

Conclusions

Le microbe de l'adénite cervicale du cobaye présente un véritable intérêt. Il faut savoir qu'en période d'épizootie l'inoculation d'un produit virulent ou toxique (1) peut déterminer la

(1) M. BOQUET nous a montré un cobaye qui présentait au point d'inoculation d'une culture de BCG un abcès à streptobacilles, en même temps qu'une légère adénite cervicale.

localisation d'un abcès où pullule le streptobacille, ainsi que cela s'est produit chez notre premier animal.

Enfin, par son action pathogène chez le lapin, nous avons un exemple, à notre connaissance le premier, d'une bactérie capable de déterminer un abcès chronique pyogène, sans atteinte de l'état général.

Il existe en pathologie vétérinaire et aussi en pathologie humaine de nombreuses suppurations chroniques dont l'agent étiologique reste encore inconnu. Sans vouloir dire que la même espèce microbienne peut y être retrouvée, on peut penser que des recherches dans une direction parallèle doivent être effectuées. Il existe parmi les microbes anaérobies, de même que parmi les aérobies, de nombreuses espèces qui ne peuvent pas se développer dans nos milieux habituels. L'adjonction à ces milieux de sérosités ou d'extraits organiques, substances favorisantes en général dont l'importance a été démontrée à diverses reprises par Legroux, doit permettre la culture de nombreuses bactéries pathogènes encore inconnues.

(Institut Pasteur, microbie technique.)

MÉTHODE DE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DE LA LÈPRE

par E. MARCHOUX et J. CARO.

Parmi les réactions sanguines utilisées par la clinique, celle qui repose sur la vitesse de sédimentation des éléments figurés dans le plasma rendu incoagulable compte parmi les plus anciennes. En 1894, Biernacki (1) en a fait une étude et lui a reconnu une certaine valeur pour le diagnostic et le pronostic des affections pulmonaires, la pneumonie et la tuberculose. Ugo Biffi l'appliqua au même objet en 1904. Cependant ces travaux n'ont pas attiré à cette réaction la faveur dont elle a joui plus tard. Sans lui attribuer une valeur spéciale à certaines maladies, Césari (2), en 1913, signale que de la vitesse de chute et de la disposition que prennent les éléments figurés dans du plasma rendu incoagulable par le fluorure de sodium on peut tirer un certain nombre de renseignements hématologiques.

Ce sont surtout les travaux de Fähræus (3) parus en 1918 qui ont attiré sur cette réaction l'attention des cliniciens. Le savant suédois constate que la vitesse de sédimentation des globules augmente pendant la gestation et de plus en plus jusqu'à l'accouchement. A partir de ce moment les travaux se multiplient sur ce sujet : on recherche les variations de vitesse de sédimentation des globules à l'occasion d'accidents pathologiques divers et en particulier chez les tuberculeux.

(1) FRENKLOWA et SAMET-MANDELSOWA, Sur la rapidité de sédimentation des globules rouges des enfants à diverses maladies. *Polska gazeta Lekarska*, nos 42 et 43, 1924.

(2) CÉSARI, La sédimentation spontanée du sang chez le cheval. *Revue générale de Médecine vétérinaire*, n° 262, 15 novembre 1913, p. 1521.

(3) ROBIN-FÄHRÆUS, Sur les causes de la moindre stabilité de suspension des globules rouges pendant la grossesse. *Bioch. Zeit.*, 1918.

Si on a renoncé à attribuer une valeur diagnostique à la vitesse de sédimentation, quelques auteurs persistent à lui reconnaître une certaine importance pour le pronostic. Elle accompagnerait la constitution de lésions cavitaires (1).

Comme de juste la même réaction a été employée dans la lèpre, par Paldrock (2), par A. Gilbert, Tzanck et Cabanis (3), par Fausto Landeiro (4), par Labernadie et André (5). Tous les auteurs s'accordent à reconnaître que la sédimentation est accélérée dans la lèpre et en particulier dans la forme tubéreuse.

Les maladies à bacilles acido-résistants ne sont d'ailleurs pas seules à se trahir par des variations de la vitesse de sédimentation des éléments figurés du sang, car on trouve une accélération dans un grand nombre d'états morbides tels que les maladies infectieuses, les tumeurs et en particulier celles du tube digestif ou du petit bassin, la paralysie générale, le tabes, l'artériosclérose, certaines psychoses, etc... La vitesse de sédimentation varie même physiologiquement. Plus rapide chez la femme que chez l'homme, elle est encore accélérée pendant la période menstruelle. Elle varie d'un individu à l'autre et chez le même individu suivant l'état de jeûne ou de digestion, suivant la substance employée pour empêcher la coagulation du sang, etc... Il semble donc, dans l'état actuel de la science, difficile d'attribuer à cette réaction une signification définie.

La réaction proposée par Rubino (6), que nous allons étudier, est aussi une réaction de sédimentation, mais elle diffère totalement de la précédente : au lieu d'opérer sur le sang citraté ou oxalaté, l'auteur met en présence, suivant une technique que nous exposons plus loin, le sérum du malade et une suspension en eau physiologique d'hématies formolées de mouton. La sédimentation ne se produirait que dans la lèpre : ce procédé,

(1) J. MEIGNANT. *Revue de la tuberculose*, 6, n° 3, juillet 1925, p. 358.

(2) PALDROCK. *Cent. fur d. Ges. Hygiene*, 12, fasc 1, p. 1.

(3) GILBERT, TZANCK et CABANIS, De l'accélération de la sédimentation sanguine au cours de la lèpre. *C. R. Soc. de Biol.* 94, 27 mars 1926, p. 837.

(4) FAUSTO LANDEIRO, La vitesse de sédimentation des hématies chez les lépreux. *C. R. Soc. de Biol.*, 95, 21 juillet 1926, p. 1261.

(5) LABERNADIE et ANDRÉ. *Bull. de la Soc. de Pathologie exotique*, 9 novembre 1927.

(6) RUBINO. *Rev. medica del Uruguay*, septembre 1926.

appliqué en effet à plus de 800 lépreux avérés, aurait donné 80 p. 100 de résultats positifs et serait demeuré constamment négatif pour toute autre maladie.

TECHNIQUE. — Le procédé de Rubino peut être résumé de la façon suivante :

1° Dans un volume déterminé de sang défibriné de mouton, le sérum est remplacé par une égale quantité d'eau physiologique. Les hématies ont été lavées au préalable trois ou quatre fois dans la même solution ;

2° On ajoute 10 p. 100 d'aldéhyde formique et le mélange est laissé vingt-quatre heures à la température ambiante ;

3° On décante. On lave trois fois au moins, et on reconstitue le volume primitif par addition d'eau physiologique ;

4° A 1 cent. cube de ce mélange on ajoute 1 cent. cube de sérum du malade présumé lépreux. Étuve à 37°, une heure.

Chez le lépreux il y a précipitation rapide des hématies. Au contraire la sédimentation est très lente (plusieurs heures) pour le sérum normal, ou pour toute autre maladie que la lèpre.

EXPÉRIMENTATION AVEC LA TECHNIQUE DE RUBINO :

50 p. 100 DE RÉSULTATS POSITIFS.

Nous avons appliqué la technique de Rubino à un certain nombre de lépreux :

- I. Lèpre mixte ou complète sans poussée évolutive.
- II. Lèpre mixte sans poussée évolutive.
- III. Lèpre mixte sans poussée évolutive.
- IV. Lèpre mixte en pleine évolution ; fièvre à type rémittent.
- V. Lèpre mixte en activité.
- VI. Lèpre mixte en pleine évolution. Facies léonin.
- VII. Lèpre mixte sans poussée évolutive.
- VIII. Lèpre mixte sans poussée évolutive.
- IX. Lèpre mixte sans poussée évolutive.
- X. Lèpre au début : épaissement du nerf cubital droit ; tache achromique du poignet droit.

Les sept premiers malades étaient en traitement à l'hôpital Saint-Louis, dans le service de M. le professeur Jeanselme. Le

malade VIII était traité à l'hôpital Pasteur. Enfin, les deux derniers malades étaient suivis au laboratoire.

Appliquée à ces dix cas, la réaction Rubino nous a donné 50 p. 100 de résultats positifs d'emblée.

a) La sédimentation des hématies de mouton formolées a été totale et rapide avec le sérum des malades I, III, IV, VI, VII.

b) Elle n'avait pas commencé après une demi-heure de séjour à l'étuve pour les malades II, V, VIII, IX, X.

LA RÉACTION EST NÉGATIVE POUR TOUT AUTRE SÉRUM QUE LE SÉRUM LÉPREUX. — Reprenant l'expérience avec un grand nombre de sérums provenant de sujets normaux ou atteints de maladies diverses : paludisme, filariose, syphilis, tuberculose, cancer, etc..., nous n'avons pas obtenu la sédimentation rapide des hématies formolées de mouton. Les résultats restent constamment négatifs également quand le sérum humain est remplacé par du sérum d'animaux tels que le cheval, la vache, le lapin, ou simplement par de l'eau physiologique.

L'ABSENCE DE SÉDIMENTATION AVEC CERTAINS SÉRUMS LÉPREUX N'EST PAS DUE A UNE MALADIE ASSOCIÉE. — Le sérum de certains lépreux ayant un pouvoir électif de sédimentation sur les hématies de mouton traitées suivant la technique de Rubino, nous nous sommes demandé si l'absence de sédimentation avec le sérum de cinq de nos malades cependant lépreux évidents n'était pas due à l'évolution simultanée d'une autre maladie. Un examen clinique soigneux de ces malades ne nous a pas permis de découvrir une affection surajoutée. De même les divers examens de laboratoire auxquels nous avons procédé sont restés négatifs : réaction de Vernes pour la syphilis, recherche du bacille de Koch, homogénéisation de crachats, ensemencement, inoculation au cobaye.

LE TYPE ÉVOLUTIF DE LA LÈPRE N'INFLUE PAS SUR LA RÉACTION. — Le mode d'évolution de la lèpre suivant un type aigu ou chronique ne paraît pas non plus avoir d'influence sur le sens ni l'intensité de la réaction : avec le sérum du malade I, par exemple, atteint de lèpre mixte sans poussée évolutive, les hématies de mouton sédimentent, alors qu'elles restent en

suspension en présence du sérum du malade II évoluant cependant suivant le même type clinique. Même remarque pour les malades IV et V : tous deux sont en pleine poussée évolutive. Or, la réaction est positive pour le premier, négative pour le second.

MODIFICATIONS APPORTÉES A LA TECHNIQUE DE RUBINO.

Où donc trouver la cause de cette inégalité en apparence inexplicable? Pour essayer de la découvrir, nous avons apporté à la technique de Rubino diverses modifications.

1° VARIATIONS DANS LE TAUX D'ALDÉHYDE FORMIQUE : Rubino donne comme nécessaire l'addition de 10 p. 100 d'aldéhyde formique à la suspension globulaire. Il est bien vrai que, si l'on traite en effet les hématies de mouton par une dose inférieure d'aldéhyde formique tout en limitant à vingt-quatre heures le temps d'action de ce produit sur les globules, on n'obtient pas de sédimentation avec les sérums lépreux. Mais il n'en est pas de même lorsqu'on prolonge l'action de l'aldéhyde formique pendant une durée inversement proportionnelle à la quantité employée; les résultats sont identiques pour des suspensions globulaires traitées de la façon suivante :

a) Suspension globulaire + 10 p. 100 d'aldéhyde formique. Mélange laissé en contact vingt-quatre heures à la température ambiante (18-20°);

b) Suspension globulaire + 5 p. 100 d'aldéhyde formique. Mélange laissé en contact quarante-huit heures à la température ambiante ;

c) Suspension globulaire + 2 p. 100 d'aldéhyde formique. Mélange laissé en contact cinq jours à la température ambiante.

2° VARIATIONS PORTANT SUR LES PROPORTIONS RESPECTIVES DE SÉRUM LÉPREUX ET DE SUSPENSION GLOBULAIRE FORMOLÉE. — Il n'était pas moins intéressant de voir si, en faisant varier la quantité de sérum lépreux mélangé à la suspension de globules formolés, nous ne trouvions pas aux sérums inactifs une action précipitante. C'est ce que l'expérience nous a montré.

Quand on opère, non plus avec des mélanges à parties égales,

mais avec trois à cinq parties de sérum pour une de suspension globulaire, les sérums lèpreux, qui nous ont donné précédemment des résultats négatifs, sédimentent au bout d'une demi-heure d'étuve, d'une façon très nette, bien que cependant d'une façon moins parfaite que les sérums lèpreux reconnus positifs d'emblée.

1 cent. cube de sérum est additionné de 2/10 de centimètre cube de la suspension globulaire. Le mélange est porté à l'étuve après avoir été agité de façon à avoir une suspension homogène. La sédimentation se produit en général au bout de vingt minutes à une demi-heure, alors qu'elle n'est pas perceptible dans le même laps de temps en présence de sérum normal.

Nous avons obtenu en particulier par cette méthode la sédimentation avec le sérum du malade X. Or, pour ce malade, les examens de mucus nasal, de même que la ponction de divers ganglions, les biopsies faites au niveau de la tache achromique de l'avant-bras droit n'ont jamais donné de résultat. Seuls les signes cliniques (tache achromique anesthésique et épaissement du cubital) ont permis de porter le diagnostic de lèpre.

Il était indispensable de voir si la sédimentation avec ces nouvelles proportions ne se produisait pas avec le sérum de personnes atteintes de maladies autres que la lèpre. La réaction est demeurée négative avec tous ceux que nous avons examinés, sauf celui d'un filarien. Ce malade, ancien soldat de la Légion étrangère, présente à son actif de nombreuses années de colonie. L'examen clinique révèle, de plus, au bras gauche, la présence d'un ganglion épitrochléen volumineux. Bien que la ponction de ce ganglion ne nous ait pas permis de découvrir des bacilles acido-résistants, nous pensons que l'hypothèse de lèpre latente ne peut être absolument écartée.

AGENTS DÉTERMINANTS DE LA RÉACTION.

1° LA SÉDIMENTATION N'EST PAS DUE A UN ENTRAÎNEMENT DES GLOBULES PAR UNE FLOCCULATION DU SÉRUM. — Nous avons pensé que la sédimentation était précédée d'une flocculation du sérum sous l'influence de traces d'aldéhyde formique. Cette flocculation, modifiant l'équilibre physico-chimique du milieu ambiant, aurait ouvert la voie à la sédimentation globulaire.

Dans le but de vérifier cette hypothèse, nous avons procédé à une série de recherches sur l'action d'une solution d'aldéhyde formique vis-à-vis de divers sérums. En mélangeant à parties égales du sérum lépreux et une solution à 10 p. 100 d'aldéhyde formique du commerce, on obtient une opalescence très nette donnant, au photomètre de Vernes, en lumière diffusée, des chiffres oscillant entre 30 et 50, mais la même opalescence se produit avec des sérums de lupiques, ou de syphilitiques donnant au photomètre de Vernes un chiffre élevé, ou bien encore de certains tuberculeux (tuberculoses médicales ou chirurgicales) et d'un très petit nombre de sérums normaux.

La floculation par l'aldéhyde formique n'est donc pas spéciale au sérum lépreux; par conséquent elle ne saurait être la cause déterminante de la sédimentation globulaire, en présence du sérum de cette nature.

En réalité, l'opalescence que nous avons observée est due à la fonction faiblement acide de l'aldéhyde formique du commerce. Elle ne se produit pas si on opère sur des sérums alcalinisés ou avec de l'aldéhyde formique préalablement neutralisé. Enfin, nous l'avons obtenue avec plus ou moins d'intensité par addition de II gouttes d'une solution d'acide acétique à 1/500 pour 0 c. c. 5 de sérum en expérience.

2° LA RÉACTION EST DUE A LA PRÉSENCE D'UNE SUBSTANCE SPÉCIFIQUE. — Nous avons vu que les sérums lépreux négatifs dans la technique primitive sédimentent si on augmente la proportion de sérum par rapport à la suspension globulaire formolée. Cette observation indique la présence probable dans le sérum d'une substance active en proportion variable. L'expérience nous a montré l'exactitude de cette hypothèse.

a) *Cette substance se fixe sur le globule formolé.* — Mélanges 1 cent. cube de suspension globulaire formolée à 1 cent. cube de sérum lépreux. Portons à l'étuve à 37°. Une fois la sédimentation obtenue, décantons le tout et complétons, à l'aide d'eau physiologique, la masse des hématies qui ont sédimenté à 1 cent. cube. Cette nouvelle suspension globulaire mélangée à 1 cent. cube de sérum normal est mise à l'étuve à 37° pendant une demi-heure. La sédimentation se produit alors que dans deux tubes témoins contenant un mélange de 1 cent. cube

de suspension formolée normale, et l'un 1 cent. cube de sérum normal, l'autre 1 cent. cube d'eau physiologique, les conditions de temps et de température étant les mêmes, les globules restent toujours en suspension.

La sédimentation est donc due à l'union de deux substances dont l'une, spécifique, se fixe sur le globule formolé et dont l'autre existe dans le sérum normal de l'homme et des animaux (lapin). Cette fixation est solide, car elle résiste à plusieurs lavages des globules rouges à l'eau physiologique.

b) *Les globules formolés fixent la totalité de la substance contenue dans le sérum.* — 1 cent. cube de suspension globulaire formolée est mélangé à 1 cent. cube de sérum lépreux et porté à l'étuve à 37°. La sédimentation obtenue, on décante la partie claire qui surnage. Ce liquide est un mélange de sérum lépreux et d'eau physiologique (suspension globulaire, moins globules sédimentés). On l'ajoute au culot de centrifugation de 1 cent. cube de suspension globulaire formolée et à 1 cent. cube de sérum normal portant le complément; on porte à l'étuve à 37° : la sédimentation ne se produit pas. On ne l'obtient pas davantage en utilisant une quantité plus forte de sérum lépreux ayant sédimenté. 5 cent. cubes d'un tel sérum n'ont pas amené la sédimentation rapide de 1 cent. cube d'hématies formolées.

Par conséquent, les hématies de mouton formolées privent entièrement le sérum lépreux de la substance active qu'il contient.

3° LE FIXATEUR ET SON COMPLÉMENT SONT ALTÉRABLES PAR LA CHALEUR. — a) Du sérum normal, après chauffage à 56° pendant une heure, se trouve inactivé, et, mis en présence d'hématies formolées sensibilisées, n'entraîne aucune sédimentation même quand le mélange est maintenu pendant une heure à l'étuve à 37°.

b) Le sérum lépreux inactivé par chauffage à 56° pendant une heure est partiellement réactivé par addition de sérum normal non chauffé.

1 cent. cube de sérum lépreux chauffé une heure à 56° est mélangé à 1 cent. cube de suspension globulaire formolée. La sédimentation ne se produit pas après une demi-heure d'étuve à 37°. Si, au mélange précédent nous ajoutons 1 cent. cube de

sérum normal non chauffé et que nous replaçons le tout à l'étuve à 37°, nous ne constatons aucune sédimentation après une demi-heure.

Mais si, au lieu de 1 cent. cube de suspension globulaire, nous employons pour la même expérience une dose 5 fois moindre, c'est-à-dire 0 c. c. 2, le résultat est tout autre. Alors que 1 cent. cube de sérum lépreux inactivé ne fait pas sédimenter, en une demi-heure à 37°, 0 c. c. 2 de suspension globulaire, le même mélange additionné de sérum non chauffé sédimente rapidement.

c) Si, au lieu de chauffer le sérum lépreux une heure à 56° nous le portons pendant une demi-heure à 50, 55 et même 58°, nous n'altérons pas la vitesse de sédimentation.

d) Les globules formolés sensibilisés chauffés à la température de 56° pendant une heure perdent une partie de la sensibilisatrice qu'ils portent.

Des globules formolés de mouton sensibilisés sont mis en suspension dans l'eau physiologique et chauffés au bain-marie pendant une heure à 56°. On y ajoute alors 1 cent. cube de sérum normal. La sédimentation se produit nettement, mais elle est incomplète.

e) Le chauffage pendant trente minutes, à 50, 55 et 58°, de globules sensibilisés en suspension dans l'eau physiologique n'empêche pas la sédimentation quand ensuite on les met en présence de sérum normal.

f) Le chauffage à 60° pendant trente minutes détruit à la fois le fixateur et le complément. 1 cent. cube de globules de mouton formolés sensibilisés sont mis en suspension dans l'eau physiologique et chauffés au bain-marie pendant trente minutes à 60°. Mélangés ensuite à parties égales avec du sérum normal, ils ne sédimentent plus après trente minutes d'étuve à 37°.

4° INFLUENCE DU VIEILLISSEMENT. — La substance spécifique s'altère par vieillissement d'autant plus vite qu'elle est conservée à température plus élevée et qu'elle existe en quantité moindre. Les sérums lépreux qui sédimentent à parties égales gardent cette propriété encore après avoir été maintenus vingt et un jours à la glacière ou dix jours à la température du laboratoire (18-20°). Ceux qui ne sédimentent qu'au 1/5 perdent

leur pouvoir après sept jours de conservation à la glacière et après quatre jours à 18-20°.

5° LE CONTACT AVEC L'ÉTHER DÉTRUIT LE PRINCIPE SPÉCIFIQUE. — Nous avons essayé d'isoler le principe spécifique en traitant par l'éther les globules formolés sensibilisés. Ceux-ci sont laissés en contact avec de l'éther pendant cinq heures à la température du laboratoire. Au bout de ce temps l'éther est décanté, évaporé, et le résidu sec repris par de l'eau physiologique. Cette eau physiologique ajoutée à du sérum normal ne lui donne pas la propriété de faire sédimenter les hématies formolées. D'autre part, les hématies sensibilisées qui ont été traitées par l'éther pendant cinq heures sont mélangées à du sérum normal. Pas de sédimentation. Le principe spécifique a été par conséquent détruit par l'éther.

6° ESSAI D'ISOLEMENT DU FIXATEUR. — Nous avons également cherché à isoler le principe spécifique lépreux en traitant les hématies formolées sensibilisées par des lavages prolongés soit dans de l'eau physiologique, soit dans des solutions salées hypotoniques ou hypertoniques sans obtenir de résultats sensibles.

CONCLUSIONS.

1° La réaction de sédimentation des hématies formolées de mouton appliquée suivant la technique décrite par Rubino, c'est-à-dire en mélangeant à parties égales le sérum lépreux et la suspension globulaire formolée, nous a donné des résultats positifs dans la moitié des cas de lèpre que nous avons étudiés ;

2° Cette réaction est restée constamment négative pour tout autre sérum que le sérum lépreux ;

3° En mélangeant le sérum lépreux et la suspension globulaire formolée dans les proportions de cinq parties de sérum pour une de suspension globulaire, nous avons obtenu la sédimentation dans la totalité des cas de lèpre que nous avons étudiés ;

4° Cette réaction est restée négative pour tout autre sérum que le sérum lépreux, sauf pour le sérum d'un malade atteint

de filariose et qui n'est peut-être pas indemne de contamination lépreuse ;

5° La réaction de sédimentation est fonction de deux substances dont l'une, spécifique, se fixe solidement sur les globules de mouton formolés et dont l'autre est commune à tous les sérums ;

6° Par chauffage du sérum pendant une heure à 56° le fixateur résiste partiellement, le complément est détruit ;

7° La température de 60° maintenue trente minutes détruit les deux substances à la fois ;

8° Le fixateur est détruit par l'éther et n'a pu être séparé des globules sur lesquels il est fixé.

**NOUVELLES RECHERCHES
SUR L'ÉVOLUTION ZOOPHILE DES FAUNES
D'ANOPHÈLES EN EUROPE**

(A. MACULIPENNIS)

D'APRÈS LES DONNÉES DE L'ARMEMENT MAXILLAIRE

par E. ROUBAUD.

La théorie du zootropisme anophélien, envisagé comme grand facteur antipalustre, après avoir rencontré au début les résistances assez vives auxquelles on était en droit de s'attendre, conquiert peu à peu droit de cité dans la malariologie. Cependant, si la réalité de la déviation exercée par les animaux protecteurs commence à être généralement admise, l'accord n'est point fait touchant les conclusions extrêmes de la théorie de l'adaptation zoophile, c'est-à-dire la genèse, dans les conditions spéciales que nous trouvons réalisées en Europe, de races anophéliennes manifestant une préférence stable et bien accusée pour le bétail. En particulier, l'interprétation du zootropisme, que j'ai tenté de déduire des modifications présentées par l'armature maxillaire, n'a pas toujours reçu, de la part des différents auteurs qui se sont attachés à la question de confirmation positive.

Sans m'arrêter aux critiques qui ont pu être adressées à cette conception, de façon peut-être un peu hâtive, j'exposerai ici le résultat de recherches complémentaires que je poursuis d'une façon continue, dans le même ordre d'idées, depuis environ huit ans. Ces recherches me permettront, je l'espère, d'appuyer les points de vue en cause, de les orienter sous un jour plus favorable, en tenant compte de certaines réserves que les investigations nouvelles ont introduites. Dans l'ensemble, j'aime à penser que la théorie de la prophylaxie animale du paludisme, telle que je l'ai formulée, se montrera singulièrement étayée

par l'étude attentive des index maxillaires anophéliens, dont l'interprétation m'apparaît nettement comme pouvant servir de base d'appréciation légitime à l'évolution zoophile des anophèles, élément essentiel de la théorie.

Je rappellerai, à ce sujet, que dans ma conception de la prophylaxie animale la présence des animaux est par elle-même un élément insignifiant du problème. Le bétail, ou les animaux protecteurs, n'ont de valeur que si l'on introduit également avec eux la stabulation permanente, sous abris *normaux* pour l'anophèle.

Ce point de vue même du bétail *stabulé* ne constitue pas encore le point de vue définitif de la question. L'expérience a montré que dans les régions agricoles qui sont devenues, par le travail humain, des régions à anophèles sans paludisme, la régulation des eaux stagnantes a toujours été le point de départ apparent de l'assainissement. Inversement aussi, l'assainissement n'a pu résulter de la seule régulation hydrologique du sol, ainsi que l'expérience l'a établi pour la Corse, par exemple. C'est que les deux facteurs : présence de bétail stabulant, d'une part, et régulation des surfaces stagnantes, de l'autre, valent surtout par leur association, alors qu'isolément leur action se montre incertaine.

J'ai tenté d'interpréter dans différents travaux la raison d'être de ces constatations : c'est que la *stabilisation* des conditions de vie des moustiques est un des plus puissants facteurs de sécurité de l'action déviatrice animale. C'est par la *stabilité* apportée à leur cycle biologique que les moustiques parviennent à sélectionner de plus en plus leurs préférences zootrophiques et c'est ainsi, grâce au facteur de régulation hydrologique, que se constituent peu à peu les races zoophiles franches, celles que nous observons dans les régions de l'Europe septentrionale et centrale aujourd'hui dégagées de l'emprise du paludisme.

J'espère montrer, dans les recherches qui suivent, comment ces conceptions se trouvent justifiées par l'ensemble des faits que je vais exposer.

I. — La théorie de la différenciation zootrope basée sur les données de l'Index maxillaire.

CONCEPTIONS GÉNÉRALES.

Dans un de mes précédents travaux (1921), j'avais fait ressortir que, conformément à une hypothèse envisagée par Wesenberg-Lund, l'étude attentive de l'armature maxillaire des femelles, chez l'*Anopheles maculipennis*, apportait des indications intéressantes touchant les habitudes alimentaires de ces moustiques. Ces indications, interprétées dans le sens précis de la théorie que j'ai formulée touchant le rôle déviateur anti-palustre des animaux domestiques, m'avaient amené à déduire de l'étude de l'*index maxillaire*, dont le mode d'établissement est indiqué plus loin, certaines données utiles à connaître au point de vue malariologique. L'ensemble de ces considérations peut être résumé comme il suit :

Dans les faunes d'anophèles qui s'alimentent rarement aux dépens des animaux, qui exploitent principalement le milieu humain pour y puiser leur alimentation sanguine courante, le nombre des dents présentes à la scie terminale des maxilles, chez les femelles, est moins élevé que lorsque l'on a affaire à des faunes largement nourries par les animaux domestiques. La différenciation de la scie des maxilles est moindre, dans les régions où la zoophilie n'est pas franche, que dans celles où le bétail subvient presque entièrement aux besoins de sang des femelles. Ces différences dans la puissance relative des lancettes appelées à perforer la peau sont en rapport avec l'épaisseur relative des téguments chez les hôtes habituels. L'homme présente les téguments les moins épais; il offre, de plus, aux attaques des moustiques des surfaces cutanées d'accès facile, en raison de l'absence d'un revêtement pileux dense; il est donc rationnel que dans les régions où les anophèles fréquentent principalement le milieu humain, où l'homme est la victime courante, assurée des moustiques, où il constitue leur source habituelle d'alimentation sanguine, l'armature maxillaire de ces derniers ne se soit différenciée qu'au minimum.

Dans les régions, au contraire, où la zoophilie est franche, où les préférences zootropes des femelles ont pu se différencier au maximum, parce que le bétail a été substitué à l'homme pour l'alimentation sanguine habituelle des moustiques, l'armature maxillaire s'est différenciée, elle aussi, dans un sens qui permet l'attaque facile des téguments plus épais et couverts de poils des animaux.

Ces considérations ne sont pas basées sur une vue de l'esprit. Elles sont le résultat d'une étude attentive de l'index maxillaire sur un grand nombre de femelles de régions diverses. J'ai donné comme limite approximative entre les deux types, zoophile et non zoophile, le chiffre de 14 dents comme index global. Les faunes non zoophiles présentent un index maxillaire inférieur à 14; les faunes à zoophilisme différencié présentent un index maxillaire supérieur à 14.

Du point de vue de l'antipaludisme, cette donnée est évidemment utile à retenir. Si les rapports des anophèles avec l'homme sont habituels et fréquents, il y aura beaucoup de chances pour que le paludisme soit également fréquent dans la région considérée, et inversement. Bien entendu, cette affection n'est pas directement et obligatoirement liée à un nombre de dents déterminé, en plus ou en moins, à la scie maxillaire des moustiques. Mais les données de l'index expriment certaines conditions biologiques des femelles, d'où résultent des rapports plus ou moins dangereux pour l'homme. Nous formulons ainsi l'ensemble de nos constatations :

Les faunes à zoophilisme indifférencié sont des faunes dont l'index maxillaire est peu élevé, généralement inférieur à 14. Ce sont les faunes les plus dangereuses pour l'homme, au point de vue malarologique.

Mais si l'on examine, dans des régions diverses de l'Europe où le bétail est abondant, l'index maxillaire des anophèles, on constate des différences importantes dans l'élévation relative de cet index au-dessus de la limite théorique de 14. Il y a des faunes zoophiles très fortement armées et d'autres qui le sont moins.

Après avoir cherché la raison profonde de ces différences, j'ai été amené à les interpréter comme le résultat de la concurrence plus ou moins intense qui s'exerce entre les femelles

zoophiles, pour l'attaque et l'exploitation des animaux. Quand la concurrence est faible, l'index maxillaire ne s'élève pas beaucoup ; il ne dépasse pas 15. Quand la concurrence est plus forte, l'index s'élève jusqu'à 17 et même davantage.

Comment la concurrence peut-elle influencer sur l'élévation du chiffre de l'index, c'est-à-dire sur la puissance relative de l'armement maxillaire ? Pour le comprendre, il suffit de se transporter, à la nuit, dans une étable très infestée d'anophèles. On voit, sous l'action vulnérante des moustiques, les animaux exploités réagir et l'on se rend compte de la difficulté que les anophèles rencontrent pour se gorger de sang. Il est alors manifeste que seules parviendront à satisfaire convenablement leur appétit les femelles douées d'une armature maxillaire robuste qui leur facilitera la percée de la peau.

La sélection des plus aptes se réalisera obligatoirement de cette manière et il en résultera l'élévation plus ou moins accentuée de l'index maxillaire global. Là encore, il ne s'agit pas d'une vue de l'esprit, mais de déductions basées sur des observations précises, sur lesquelles nous reviendrons plus loin. Le fait principal, qui nous permet d'étayer la théorie, c'est que : *les moustiques pourvus d'une armature maxillaire à dents nombreuses sont plus aptes, dans les faunes très denses, à se nourrir aux dépens du bétail que les moustiques faiblement armés.*

Mais, lorsque la concurrence est grande pour la nourriture sanguine aux dépens du bétail, on constate que nombre de femelles, en particulier celles dont l'armature maxillaire est insuffisamment différenciée, ne peuvent se gorger de sang aussi abondamment que lorsque le bétail est très abondant pour l'ensemble de la faune. Les faunes zoophiles à index maxillaire élevé sont, en réalité, des faunes plus ou moins insuffisamment nourries par les animaux. Il en résulte que nombre de femelles de ces faunes doivent compléter leur alimentation sanguine aux dépens de l'homme. Par suite, on devra s'attendre à voir les manifestations palustres reprendre avec une certaine intensité, dans les régions où l'index maxillaire des anophèles est particulièrement élevé.

A titre d'indications, j'ai fait ressortir dans une courbe qu'entre 14 et 15 dents, comme moyenne d'index maxillaire, les faunes zoophiles, largement nourries par le bétail, sont peu

dangereuses pour l'homme, et que l'existence de telles faunes réduit au minimum pour lui les possibilités d'infection palustre. Lorsque l'index maxillaire dépasse 15, on doit s'attendre à voir le paludisme renaître avec plus de fréquence, au fur et à mesure que le chiffre de l'index maxillaire s'élève.

Bien entendu, ces notions ne doivent pas être prises dans un sens absolu; elles représentent simplement des données approximatives générales.

Il est bien certain, comme nous le disions plus haut, que l'affection palustre n'est pas obligatoirement liée par essence à un nombre déterminé de dents chez l'anophèle. Il pourra se faire que le paludisme ne s'observe pas dans des régions à index faible, de même que dans des régions zoophiles où l'index maxillaire est élevé, soit que l'affection ait disparu sous l'influence du traitement quinique, soit qu'elle n'ait pas été introduite. Mais, dans l'ensemble, les indications que nous pouvons déduire de l'examen des index permettent de prévoir, selon nous, d'après la nature des rapports qu'ils expriment entre une faune locale d'anophèles et l'homme, certaines possibilités d'infection palustre pour ce dernier, plus ou moins pressantes, plus ou moins sérieuses.

DIFFÉRENTES INTERPRÉTATIONS DES VARIATIONS MAXILLAIRES DE L'*A. maculipennis*.

La théorie du zoophilisme, ainsi basée sur l'interprétation des index maxillaires, n'a guère retenu jusqu'ici l'attention des malariologues. Tout au moins, la plupart des auteurs n'ont-ils pas saisi de lien entre le degré de différenciation relatif de la scie des maxilles et les habitudes zoophiles des femelles ou leurs rapports possibles avec l'homme.

Martini, en 1922, a tenté d'introduire une interprétation nouvelle des variations constatées dans l'index maxillaire, pour l'*A. maculipennis*, suivant les régions. Pour cet auteur, les différences observées dans la denticulation maxillaire dépendent avant tout de la taille des moustiques, les plus petits ayant naturellement moins de dents que les plus grands; et ces variations dans la taille sont elles-mêmes régies par les conditions de température différentes auxquelles ont évolué

les insectes. Les anophèles qui se sont développés dans les climats froids, ou au cours d'une saison fraîche, ont une taille plus forte et un index plus élevé que ceux des moustiques nés à plus haute température.

Le point de vue de Martini est exact, en ce qui concerne la taille. Il suffit d'avoir élevé des larves de moustiques à des conditions thermiques variées pour reconnaître qu'en accélérant l'évolution des larves par la chaleur on obtient habituellement des individus de dimensions plus réduites que lorsque les larves évoluent plus lentement, à plus faible température. Ces différences sont liées, avant tout, aux possibilités de nutrition des larves, et ces possibilités, pour les anophèles, dépendent aussi fortement de l'étendue des surfaces d'eau qui véhiculent la nourriture. Quoi qu'il en soit, si la température peut, directement ou non, influencer sur la taille, une observation attentive montre très vite que celle-ci, en retour, n'influe pas généralement sur le développement relatif de la scie maxillaire.

C'est cependant, à vrai dire, la première idée qui s'impose à l'esprit, d'établir un lien entre les dimensions des femelles et la puissance relative de l'appareil vulnérant des maxilles. Il paraît rationnel de penser que le nombre des dents de la scie maxillaire est plus élevé chez les exemplaires de grande taille que chez les individus de dimensions réduites. Pourtant, il est loin d'en être toujours ainsi, et j'avais pris soin, dans mon premier travail sur la différenciation des races zootropes d'anophèles, d'indiquer à ce sujet que : « les variations individuelles dans le nombre des dents de la scie maxillaire sont *nombreuses et indépendantes de la taille*. Des anophèles de 6 millimètres peuvent avoir moins de dents que des anophèles de 4 millimètres » (1). Il me semblait que cette assertion devait suffire pour mettre en garde les auteurs contre cette erreur première d'interprétation.

Les observations et expériences récentes des auteurs hollandais : van Thiel (1926), A. de Buck (1926), Swellengrebel et ses collaborateurs (1927), à qui l'on doit des travaux très poussés sur l'*A. maculipennis*, dans le sens qui nous occupe, font bien nettement ressortir l'absence de relation valable entre les dimen-

(1) *Bull. Soc. Path. exot.*, 14, n° 9, 1921, p. 582.

sions des moustiques et l'index maxillaire. Les petits anophèles, qu'ils ont tendance à considérer comme constituant aux Pays-Bas une race distincte des grands individus, n'ont pas un index général plus faible que ces derniers, tout au contraire.

Enfin, pour juger définitivement la question soulevée par Martini, j'ai réalisé des expériences d'élevage de pontes diverses à températures différentes. Ces expériences, auxquelles je renvoie, car le détail en est exposé plus loin (p. 604), montrent bien, comme il fallait s'y attendre, que la température n'est pour rien dans les modifications du développement maxillaire envisagé.

A. de Buck, E. Schoute et N. Swellengrebel sont arrivés de leur côté à une conclusion identique, bien que leurs expériences expriment, comme les nôtres, parfois une légère baisse de l'index dans les élevages pratiqués à température tropicale. Mais ils font ressortir, avec raison, que d'autres causes que la température interviennent ici, en particulier les troubles que peut apporter la haute température au développement larvaire, et qui se traduisent par une mortalité considérable dans leurs élevages.

Il convient également d'indiquer que Van der Hoeven (1924), tout en n'envisageant pas spécialement l'influence de la salure sur le développement de l'armature maxillaire, a émis l'hypothèse que la salinité des eaux de développement pouvait agir sur la vitalité des anophèles, les rendre moins vigoureux et par suite plus réceptifs à l'égard de l'infection palustre. Cette conception, contraire aux vues de Grassi (1922) qui pense de son côté que le sel accroît l'activité des anophèles, a été soumise par Van Thiel (1927) au contrôle de l'expérience, ainsi que par Swellengrebel et ses collaborateurs. Les résultats ont fait ressortir que la salinité des gîtes n'influence ni la taille des moustiques, ni leur index maxillaire.

Dans les expériences que j'ai réalisées de mon côté (v. p. 605) je n'ai pas non plus constaté que l'élevage en eau saumâtre fût susceptible d'influer sur les index. Au point de vue expérimental, seules, en règle générale, se sont montrés capables de modifier le degré de différenciation de la scie maxillaire les conditions mauvaises des élevages; celles-ci se traduisent par une forte mortalité chez les larves, par les nombreux avorte-

ments des éclosions imaginale et le mauvais état des individus ailés obtenus. Dans nos expériences, chaque fois que ces mauvaises conditions se sont manifestées, et ce fut presque toujours dans les élevages à la haute température continue de l'étuve, nous avons vu décroître l'armement maxillaire. Mais, dans la nature, de pareilles circonstances ne sont pas pratiquement à envisager.

Les auteurs hollandais tendent, comme nous venons de le voir, à interpréter comme différences de races les différences observées par eux dans la taille des *maculipennis* des Pays-Bas. Ils ne se prononcent pas nettement sur l'origine et la nature des différences d'index maxillaires qu'ils ont également constatées dans les anophèles de régions diverses examinés par eux. Jusqu'ici la question demeure donc pendante. Nous espérons montrer, en reprenant le détail des principes sur lesquels s'appuie notre conception du zoophilisme, que seules ces conceptions permettent de se représenter d'une façon rationnelle l'origine et la signification des modifications maxillaires observées dans les différentes régions de la zone d'habitat de l'anophèle considéré.

ETABLISSEMENT DE L'INDEX MAXILLAIRE.

MODE DE NUMÉRATION DES DENTS DE LA SCIE.

L'une des difficultés auxquelles on se heurte dans l'appréciation de l'index maxillaire, conformément à la thèse que j'ai envisagée, réside dans les différences de notation des auteurs au point de vue de la numération des dents maxillaires et du mode d'établissement des index. Il est de toute évidence, pour que les résultats soient comparables, que la méthode de numération doit être strictement la même partout. C'est là une nécessité d'autant plus grande que très souvent il y a une inégalité marquée entre chacune des scies de la même paire maxillaire, chez un même moustique; que souvent, aussi, les dents extrêmes sont peu apparentes et difficiles à mettre en évidence; enfin, il faut ajouter que fréquemment la hampe des maxilles présente, au voisinage de la scie, des aspérités dentiformes (fig. 1, P) qui simulent, à un examen superficiel, le prolongement même de cette scie.

Dans notre numération, nous excluons toujours ces aspérités qui ne font pas nettement partie de la scie maxillaire, et dont il est facile de les distinguer, soit par leur aspect incolore, soit par l'inégalité des intervalles qui les séparent des autres dents, à coloration nettement plus foncée, de la scie proprement dite.

Ne sont comptées comme dents maxillaires que les denticulations à teinte obscure et qui apparaissent au moins, lorsqu'elles sont à l'état rudimentaire, sous l'aspect d'une macule



FIG. 1. — Trois types différents d'armatures maxillaires, montrant le mode de numération couramment adopté.

P, Les aspérités dentiformes de la hampe, qui sont exclues de la numération. Les denticules accessoires (fig. I, 9, 13; fig. II, 7), ne sont pas comptés.

grisâtre due à l'épaississement de la chitine. Les denticules qui parfois se rencontrent aussi latéralement, par rapport à la scie normale, ne sont pas non plus compris dans la numération. Il en est de même pour les dents accessoires (I, nos 7, 9, 13; II, n° 7) provenant parfois du dédoublement d'une même dent. Dans le cas de dédoublement simple égal, les deux dents attenantes, et dont l'intervalle est plus réduit que l'intervalle habituel entre deux dents successives, ne sont comptées que pour une seule.

La numération se fait en comptant intégralement toutes les dents perceptibles, depuis l'extrême pointe jusqu'à la base, y compris les dents rudimentaires de celle-ci. A l'extrême pointe, la numération débute à partir de la première aspérité visible dans le plan dentifère. L'observation se fait soit à sec, avec un objectif n° 7, soit à l'immersion, ce qui est moins facile. La numération porte toujours sur le total des dents pour les deux maxilles du même insecte. Ce nombre, divisé par deux, donne l'index maxillaire individuel. L'index global d'une faune s'établit d'après la moyenne des index individuels observés. Bien qu'en principe cette dernière moyenne exige des numérations individuelles aussi nombreuses que possible, en fait nous avons constaté que 25 examens permettaient déjà des appréciations satisfaisantes.

Malgré leur délicatesse apparente, ces numérations d'index, faites soigneusement de la manière indiquée, fournissent des résultats comparables entre observateurs différents, comme nous l'avons contrôlé. Les observations faites par les auteurs hollandais, Swellengrebel et ses collaborateurs, Van Thiel, etc., dans leurs récents travaux, avec la même méthode de numération, sont superposables aux nôtres. Il en est de même pour celles de Martini.

II. — L'index maxillaire et ses variations suivant les hôtes.

A. — *Races d'A. maculipennis à zoophilisme indifférencié.*

J'ai indiqué antérieurement, d'après des observations faites sur des anophèles de Macédoine, de Corse, d'Algérie, tous capturés dans les habitations ou les abris humains, que pour ces faunes de moustiques, dont les rapports avec l'homme sont prédominants, le nombre des dents maxillaires fournissait une moyenne d'index habituellement inférieure à 14. De telles faunes peuvent être caractérisées comme des faunes à zoophilisme indifférencié, parce que l'évolution de l'armature d'attaque des maxilles est inférieure à celle que nous observons chez les populations d'anophèles vivant habituellement aux dépens des bestiaux; la puissance dentaire de la scie ne s'y rencontre pas à

un degré aussi élevé. Non seulement la moyenne des dents maxillaires y est généralement inférieure à 14, mais encore la proportion des individus bien armés, c'est-à-dire possédant plus de 14 dents à la scie maxillaire, est très inférieure à la moitié du nombre total.

J'ai étendu, depuis, ces premières notions à différents lots de moustiques capturés dans des régions similaires au point de vue des rapports anophéliens avec l'homme (Maroc, Tunisie, Syrie) et les résultats obtenus les confirment nettement dans l'ensemble, comme le fait ressortir le tableau ci-après :

RÉGION (1)	NOMBRE d'anophèles examinés	INDEX maxillaire	POURCENTAGE à plus de 14 dents
Maroc (Cap Blanc)	143	13,5	27 %
Maroc (Douar-Lamachat) . . .	25	14,1	44
Syrie (Alexandrette)	44	13,7	26
Tunisie (Carthage, Douar-Chott, Oued-Bezirk)	40	13,0	0

(1) Les anophèles du Maroc m'ont été adressés par M. Delanoë, ceux d'Alexandrette par M. Fonquernie, ceux de l'Oued-Bezirk par M. Colas-Beicour, que je remercie très vivement ici.

On voit que pour ces différentes populations de *maculipennis*, nord-africaines et méditerranéennes, le nombre moyen des dents de la scie reste généralement inférieur à 14. C'est seulement pour le lot des anophèles de Douar-Lamachat que nous le voyons atteindre 14,1. Mais le nombre des moustiques examinés dans ce dernier lot a été trop peu nombreux pour que ce chiffre puisse être considéré comme définitif. Enfin, le plus souvent, la proportion des individus pourvus de plus de 14 dents est faible et ne dépasse guère le quart de la faune totale.

Dans toutes ces faunes examinées, il s'agit bien de la forme type du *maculipennis* et non de la forme méditerranéenne voisine : *A. sacharovi* Fawr. (= *A. elutus* Edw.).

Un autre caractère de ces faunes à zootropisme indifférencié, c'est une réelle tendance à l'uniformité dans la puissance maxillaire des individus dans son ensemble. Sans doute, on note des variations assez sensibles entre les termes extrêmes des chiffres individuels qui expriment le nombre des dents

maxillaires de la scie; mais l'étendue de ces variations est d'ordinaire moindre que celle que l'on peut noter pour les anophèles zoophiles. De plus, les graphiques qui expriment la fréquence relative des différents types d'armatures manifestent surtout la prédominance nette d'un type unique de dentition, rarement de plusieurs, comme on l'observe habituellement pour les faunes zoophiles ainsi que nous l'établissons plus loin.

Les graphiques de la figure 2 font bien ressortir ces différences essentielles entre les courbes de fréquence correspondant l'une (à gauche) à des anophèles non zoophiles du Maroc

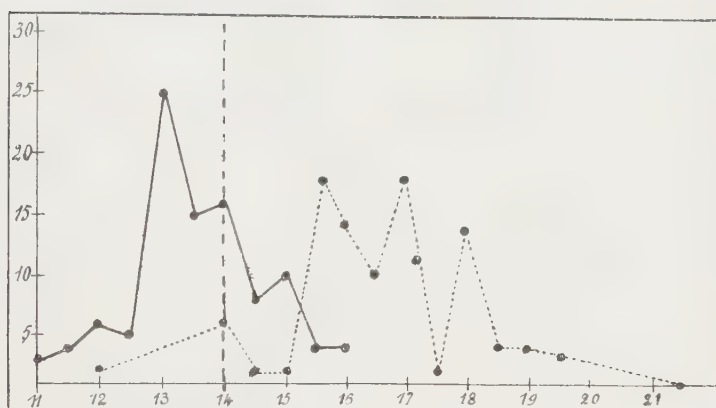


FIG. 2. — Graphiques de numération des armatures maxillaires pour deux populations types d'*A. maculipennis*, l'une non zoophile, l'autre zoophile.

En trait plein, à gauche, faune non différenciée dans le sens zoophile du Maroc (Cap Blanc) : un seul maximum, à 13 dents. En pointillé, à droite, faune bien différenciée dans le sens zoophile de l'Italie du Nord (Marmorta) : plusieurs prédominances. (En abscisses le nombre des dents maxillaires, en ordonnées le nombre des moustiques. La ligne pointillée verticale précise la limite théorique de 14 dents séparant les deux types, dont le maximum de fréquence s'oriente l'un à gauche, l'autre à droite de cette limite.)

(Cap Blanc), l'autre (à droite) à des anophèles fortement différenciés dans le sens zoophile, de l'Italie du Nord. En même temps qu'on se rend nettement compte de la différence de puissance moyenne dans les moyens vulnérants maxillaires des femelles de ces deux faunes, on voit que dans la faune zoophile italienne prédominent environ 4 types de dentition principales (15,5 dents, 16 dents, 17 et 18 dents), tandis que dans la faune

marocaine nous n'observons qu'un type à 13 dents en prédominance absolue; les individus à 13,5-14 dents qui sont aussi assez répandus le sont beaucoup moins que les précédents, à 13 dents.

Dans les moustiques capturés à Douar-Lamachat, également par M. Delanoë, j'ai noté aussi la prédominance absolue du type à 13 dents, avec une autre prédominance, mais beaucoup moins accusée, à 15 dents, qui semblerait indiquer que l'homme n'est pas le seul principal exploité dans cette faune.

Le graphique (fig. 3) qui a trait à la faune d'Alexandrette,

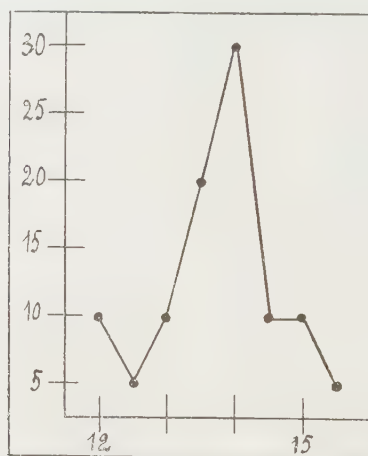


FIG. 3. — Courbe de fréquence des types d'armature maxillaire, établie pour une population non zoophile d'anophèles, d'Alexandrette. Un seul type dentaire prédominant, à 14 dents.

recueillie par M. Fonquernie, montre typiquement encore la prédominance absolue des individus à 14 dents avec une autre fréquence moindre des individus à 13,5 dents qui s'en rapprochent étroitement. Si l'on compare ces graphiques (1) de nos faunes non différenciées dans le sens zoophile et qui exploitent l'homme comme hôte dominant, avec les graphiques que nous publions plus loin pour les faunes zoophiles exploitant

(1) Le graphique publié par Ed. et Et. Sergent et leurs collaborateurs (1922), pour les anophèles de Bône, est également du même type; mais la numération qui lui a servi de base ne semble pas avoir été faite d'après notre procédé, ce qui empêche une comparaison plus étroite.

un type d'hôte uniforme, on saisit tout de suite les ressemblances d'allures générales de ces courbes. Les courbes simples, à un seul maximum peu éloigné de 14, traduisent donc bien pour les faunes d'anophèles l'exploitation d'un hôte uniforme à téguments d'attaque facile, et ce que nous savons de la biologie et des rapports palustres de ces moustiques avec les populations humaines montre que cet hôte, uniformément exploité comme hôte dominant, est l'homme.

RAISONS DÉTERMINANTES DE L'INDIFFÉRENCIATION ZOOPHILE. — De telles faunes, moins bien armées pour l'attaque des animaux, en raison de la puissance moyenne plus faible de leur scie maxillaire, s'observent surtout dans la partie méridionale franche de la zone géographique occupée par l'*A. maculipennis* dans son ensemble. Ce sont, par excellence, les faunes du domaine méditerranéen et nord-africain, où l'*A. maculipennis* développe au maximum son rôle néfaste de vecteur palustre.

Est-ce à dire que si l'anophèle, dans ces régions, néglige d'exploiter la faune animale pour se tourner de préférence vers l'homme, ce soit en raison d'une impuissance fonctionnelle réelle de son armature vulnérante, ou bien par suite de ses affinités trophiques exclusives pour l'espèce humaine? Certainement non. Si le *maculipennis* de Corse, d'Algérie, de Tunisie, du Maroc, etc., n'a pas différencié le plus souvent son armature maxillaire dans un sens qui exprime pour nous des habitudes franchement zoophiles, c'est que le bétail-hôte n'existe généralement pas pour lui dans ces régions. Il importe de rappeler ici que seul est « efficient », suivant la définition que nous en avons donnée (1920), pour l'*A. maculipennis*, le bétail placé en condition de stabulation favorable. Echappent à l'anophèle les troupeaux de plein air ou les animaux placés sous des abris inefficaces pour provoquer l'attraction et le stationnement des femelles. A cet égard, les vastes étables, hautes, spacieuses et bien aérées, sont aussi défavorables, pour permettre le libre exercice de son zoophilisme au moustique, que les abris précaires, mal clos pour le vent et pour le soleil.

Si, dans la zone méridionale de sa zone d'habitat, l'*A. maculipennis* n'a pas différencié aussi fortement qu'en Europe septentrionale ses habitudes zoophiles, si son armature maxillaire

n'a pas évolué dans ce sens, c'est que, pour des raisons avant tout de climat et d'industrie animale, comme je l'ai indiqué dans un autre travail (1), les abris à bestiaux sont généralement moins favorables que les habitations humaines, dans cette zone méridionale, à la vie du moustique.

En Afrique du Nord, en Asie Mineure, comme dans l'Europe méridionale, en raison de la chaleur le bétail est d'ordinaire maintenu en plein air, à la belle saison, ou, s'il stabule, c'est sous des abris imparfaits qui laissent passer largement le vent ou les rayons solaires (fig. 4); de tels abris, surtout destinés à donner aux animaux une protection relative contre l'ardeur du soleil, ne correspondent nullement aux étables bien closes des contrées plus froides (fig. 5); ils sont inconfortables pour l'anophèle et celui-ci s'en écarte pour rechercher les habitations humaines mieux closes. Il suffit de jeter un coup d'œil sur la figure 4 pour se rendre compte des conditions d'abri meilleures offertes au moustique, en Tunisie du Nord, par le gourbi, en forme de hutte bien close, que par l'abri précaire réservé aux animaux. C'est, selon nous, pour cette raison essentielle d'imperfection de la stabulation sous abri, que, dans la partie chaude de sa zone géographique, l'*A. maculipennis* n'est pas devenu essentiellement zoophile et qu'il maintient avec l'espèce humaine des rapports fondamentaux de cohabitation, avec toutes leurs conséquences palustres. Les races de cet anophèle qui peuplent l'aire méridionale de l'espèce sont, par nécessité, et par suite du peu de soin que l'homme y a jusqu'ici apporté à la protection de ses animaux contre les intempéries, demeurées, avant tout, des ennemis de l'espèce humaine, comme l'étaient vraisemblablement, aux temps primitifs de la stabulation, celles de l'Europe septentrionale.

L'étude de l'index maxillaire est corroborée pleinement par les données de l'observation. Celle-ci nous montre en effet, au Maroc, en Algérie, etc., l'anophèle attaquant l'homme constamment, même dans des habitations spacieuses qu'habituellement il ne recherche pas; rarement on le rencontre au voisinage du bétail. Et l'index maxillaire des *maculipennis* de

(1) Les principes directeurs de la Prophylaxie pratique du paludisme. *Bull. Soc. Path. exot.*, 18, 1925, p. 210. Voir également : Les raisons de l'absence en Europe septentrionale de l'endémie palustre estivo-automnale. *Ibid.*, p. 279.



FIG. 4. — Type de stabulation impropre à la fixation anophélienne et au développement de la zoophilie protectrice dans la Tunisie du Nord. (Gourbi de Travailleurs agricoles.)

L'abri animal (à gauche), insuffisant et précaire, ne convient pas à l'anophèle; l'abri humain (à droite), sombre et bien clos, convient à l'anophèle qui attaque l'homme de préférence au bétail.



FIG. 5. — Type d'habitation et d'abri à bestiaux favorable à l'évolution zoophile, dans le marais vendéen. L'étable (à gauche), bien close, de construction basse, convient bien à la fixation de l'*A. maculipennis* et au développement de la zoophilie protectrice.

Les fossés herbeux entourant le domaine stabilisent la multiplication anophélienne. (Race zoophile stable.)

toutes ces régions où le bétail ne peut guère exercer son rôle protecteur, montre bien, par le faible développement de la scie maxillaire, que les aptitudes zoophiles des femelles sont imparfaitement différenciées.

Cette indifférenciation relative n'est pas suffisante pour empêcher les anophèles des races en question d'attaquer, à l'occasion, les animaux, de les rechercher et de se gorger

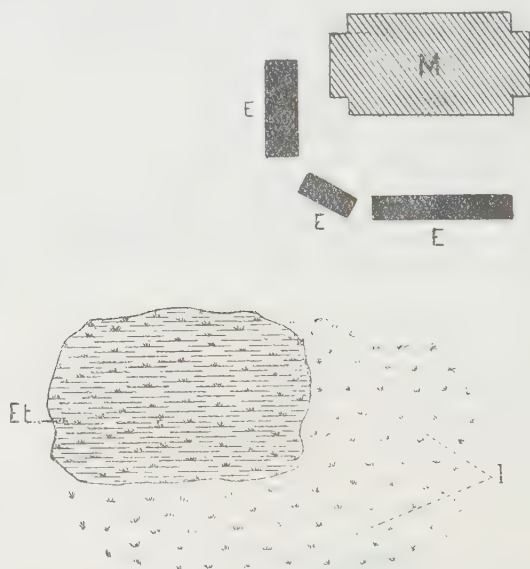


FIG. 6. — Schéma destiné à préciser les conditions de la protection animale au premier degré, ou protection par *abris de fixation*, dans une région palustre encore non préparée pour l'avènement de la zoophilie franche.

Les marais ou étangs *Et.*, non stabilisés hydrologiquement, sont susceptibles de débordements dans une vaste zone d'inondation *I*. Les anophèles peuvent être arrêtés et *fixés* en partie, par les abris à bestiaux *E*, organisés en rideau ou écran, entre la maison *M* et le marais.

même abondamment sur eux. Le faible développement moyen de la scie maxillaire dans ces races méridionales ne signifie pas que les moustiques y soient individuellement inaptes à piquer les animaux. Il signifie seulement que les facteurs de concurrence n'ont pas agi, parmi ces faunes à zoophilisme indifférencié, de manière à perfectionner dans le sens strictement zoophile leurs facultés d'attaque.

En fait, on peut observer, comme je l'ai signalé pour la

Corse, avec M. Leger (1921), comme l'a également constaté Brumpt (1925), que si par hasard les circonstances de stabulation le permettent, les anophèles, quoique non différenciés dans le sens zoophile, attaquent cependant fort bien les animaux. Mais, ainsi que nous le développerons plus loin, leur attraction zoophile est encore insuffisante pour se manifester lorsqu'elle n'est pas stimulée par l'influence immédiate et directe d'animaux très accessibles. Les anophèles de Corse vont au bétail, de préférence à l'homme, lorsque, les conditions d'abri étant favorables, le bétail se trouve, en outre, plus facilement offert aux attaques des moustiques que l'homme. C'est le cas, par exemple, lorsque les étables ou abris à bestiaux se trouvent interposés sur le trajet des anophèles allant des marais de développement aux habitations où ils trouvent à se nourrir. Les étables, auxquelles les moustiqués dans leur vol parviennent en premier, jouent alors le rôle de barrages ou d'écrans de protection : les femelles d'anophèles peuvent s'y arrêter en plus ou moins grand nombre et les habitations humaines plus éloignées se trouvent ainsi partiellement protégées, comme nous l'avons constaté avec M. Leger en Corse, à Padulone, et, quelques années plus tard, E. Brumpt. C'est le cas relativement simple de protection au premier degré, représenté par la figure 6. La faune d'anophèles est alors fixée et absorbée en partie, sur place, par les abris animaux interposés. Il n'y a pas encore de déviation réelle, mais *fixation protectrice* ou absorption.

Mais cette protection par *abris de fixation* ou écrans-animaux ne constitue que le premier terme de la question. L'étude du comportement des races zoophiles bien différenciées, comme on peut l'observer dans les régions d'Europe dites à anophèles sans paludisme, permet de se rendre compte que la prophylaxie animale du paludisme peut tendre à des résultats plus parfaits. Nous le montrerons en étudiant les races de *maculipennis* à zoophilisme différencié.

B. — *Faunes d'A. maculipennis* à *zootropisme différencié*.

L'ÉLEVATION DE L'INDEX MAXILLAIRE EST EN RAPPORT AVEC L'ALIMENTATION PLUS OU MOINS FACILE SUR LES ANIMAUX. — Nous venons donc de confirmer que les races d'*A. maculipennis* vivant par

excellence aux dépens de l'homme, dans les régions méditerranéennes et nord-africaines, sont des races à scie maxillaire médiocrement différenciée. Le nombre moyen des dents de la scie n'y excède pas 14, et la proportion des individus porteurs de maxilles à moins de 14 dents est largement prédominante dans ces faunes.

Si au contraire nous étudions des anophèles provenant des étables et abris à bestiaux, des régions d'Europe où la stabulation est répandue et pratiquée depuis longtemps dans de bonnes conditions, on voit que le nombre moyen des dents de la scie y est sensiblement plus élevé que dans les faunes précédentes. La proportion des individus à moins de 14 dents est dominée par celle des individus mieux armés. Dans mon étude antérieure (1921), j'ai fait ressortir que l'élévation de l'armature maxillaire, pour ces faunes zoophiles franches, est d'autant plus poussée que l'alimentation de ces faunes aux dépens des animaux est plus difficile, en raison de l'insuffisance relative du nombre des animaux par rapport au nombre des moustiques. C'est la concurrence pour l'attaque du bétail qui est le facteur essentiel de cette élévation de l'armature des maxilles. Il en résulte que moins les femelles parviennent à se gorger facilement aux dépens des bestiaux, plus le chiffre de l'armature tend à s'élever. Et l'élévation excessive de l'index, qui, dans une certaine mesure, traduit une insuffisance d'alimentation sanguine pour l'ensemble de la faune, entraîne pour l'homme une conséquence importante : c'est qu'une partie des femelles, insuffisamment nourrie par les animaux, tend à se retourner contre lui. On peut voir alors le paludisme reparaitre ou persister, comme conséquence de rapports partiellement maintenus des anophèles avec l'homme.

J'ai donné antérieurement différents exemples à l'appui de cette thèse, empruntés aux anophèles de Vendée, d'Argonne, de Hollande, etc. Grâce à l'obligeance de M. Franchini, directeur de l'École de Médecine tropicale de Bologne, j'ai pu compléter ces premières informations par une étude systématique d'anophèles zoophiles provenant en particulier de la province de Bologne et de Ravenne. Ces anophèles étaient capturés, soit dans les habitations (Ravenne), soit dans les étables des localités diverses relevant de cette province. Les

échantillons m'étaient adressés avec des indications touchant la présence, abondante ou non, du bétail nourricier, la fréquence relative ou l'absence du paludisme, etc. Dans le tableau ci-après, j'ai exprimé les résultats obtenus par l'examen de ces moustiques, au point de vue de l'index maxillaire; la proportion relative de femelles gorgées de sang fait ressortir, par comparaison, le degré d'alimentation sanguine de la faune.

LOCALITÉS	DATE	NOMBRE de moustiques examinés	POURCENTAGE de femelles gorgées de sang	INDEX MAXILLAIRE global	POURCENTAGE à plus de 14 dents	BÉTAIL	PALUDISME
Medicina . .	Septembre 1926.	50	90	15,6	75	Nombreux.	0
Pagnone . .	Septembre 1926.	50	95	15,4	90	Nombreux.	0
Fiorentine . .	Septembre 1926.	50	97	15,1	75	Présent.	Rare.
Malalbergo . .	Août 1925.	40	96	15,6	75	»	0
S. Agata . .	Août 1925.	55	90	15,9	82	»	0
Galeazza . .	Octobre 1926.	40	50	16,2	—	Présent.	0
Passo-Segni .	Octobre 1926.	35	90	14,7	—	Présent.	Très rare.
Bentivoglio .	Septembre 1926.	50	20	16,3	90	Présent.	Assez fréquent
Ravenne . .	Septembre 1926.	50	16	17,4	95	Très rare.	Fréquent.
Ravenne . .	Octobre 1926.	50	10	17,6	100	Très rare.	<i>Pl. vivax</i> <i>Pl. præcox.</i>

Si l'on se reporte aux données du tableau ci-dessus, on reconnaît immédiatement que les localités dont les faunes sont les plus mal nourries sont effectivement celles pour lesquelles l'index maxillaire observé est le plus élevé. Les deux échantillons de Ravenne, dans lesquels 10 à 16 p. 100 seulement des femelles sont gorgées de sang, fournissent un index supérieur à 17 dents, avec la totalité des individus à plus de 14 dents. Or, dans le périmètre de cette ville, les animaux nourriciers sont rares et la faune s'attaque partiellement à l'homme. Pour Bentivoglio, où 20 p. 100 seulement des femelles ont pris du sang en quantité suffisante, l'index dépasse 16 et la presque totalité des moustiques présente plus de 14 dents. A Galeazza, où il n'y a que la moitié des femelles gorgées de sang, l'index est également supérieur à 16.

Dans tous ces cas, il s'agit bien de faunes en pleine activité biologique, et non de faunes hibernantes tardives. Les

mâles sont nombreux dans tous les lots, ce qui témoigne des éclosions récentes.

Nous voyons donc ici se confirmer absolument la notion essentielle sur laquelle s'appuie notre conception de la prophylaxie animale, à savoir que : *l'élévation de l'index maxillaire, caractérisant les faunes zoophiles franches, est en rapport avec les nécessités plus ou moins impérieuses d'attaque du bétail*. Les faunes dont l'index est le plus différencié dans le sens zoophile, c'est-à-dire les faunes les plus fortement armées, sont celles dont l'alimentation sanguine aux dépens des animaux est la moins parfaite, la plus difficile, parce que ces hôtes résistent vigoureusement aux attaques des moustiques.

INFLUENCE DE LA CONCURRENCE SUR L'ÉLEVATION DE L'INDEX MAXILLAIRE DES MOUSTIQUES. — Quelle est la raison du phénomène? Avant tout, le fait même de la concurrence qui s'exerce àprement pour l'attaque du bétail, lorsque les faunes d'anophèles sont très denses, les moustiques particulièrement nombreux dans les étables. C'est là un fait qu'il faut bien comprendre et sur lequel nous avons déjà insisté précédemment.

Certains auteurs ne paraissent pas apprécier la valeur de l'élévation de l'index maxillaire comme fonction de la concurrence, parce que, dans les conditions expérimentales, ils observent que les anophèles se gorgent assez aisément de sang sur les animaux, quelle que soit la différenciation de leur index maxillaire. Pour raisonner comme il convient sur les phénomènes, il faut se placer non pas dans les conditions des expériences artificielles, mais bien dans le domaine réel et naturel des moustiques. Il faut observer dans une étable ne renfermant qu'un petit nombre d'animaux, en été, une foule extrêmement dense d'anophèles, comme on le constate par exemple dans les marais de Vendée ou de Hollande. Il faut également se rendre compte que le temps réservé aux moustiques, pour l'attaque et la satisfaction de leurs besoins de sang, est très court. Il correspond aux heures de réveil et d'activité spontanée, que j'ai définies pour l'*A. maculipennis* comme étant essentiellement les heures crépusculaires (1918, 1920).

Il résulte en effet des manifestations rythmiques d'activité spontanée, si caractéristiques de cette espèce anophélienne, que

toutes les femelles d'une faune donnée entrent en activité pour l'attaque et la piqure, sensiblement en même temps, à la tombée du jour. Cette période d'activité crépusculaire ne dure que quelques heures et, au commencement de la nuit, la plupart des moustiques s'immobilisent à nouveau. Pendant la majeure partie de la nuit, les anophèles demeurent, pour la plupart, au repos. Ils n'attaquent pas plus que pendant le jour (1).

Au début du jour, à l'aube, il existe une deuxième phase d'activité spontanée que j'ai pu parfaitement étudier cette année même en Vendée. Elle se manifeste, pour juillet-août, vers 5 h. 30 ou 6 heures du matin et ne dure pas non plus longtemps. Comme l'ensemble des femelles obéissent aux mêmes actions physiologiques spontanées, il en résulte que les animaux sont attaqués en masse par une faune souvent excessivement dense, pendant deux courtes périodes crépusculaires. Sous l'influence des attaques massives des moustiques, les animaux réagissent violemment, se défendent; il devient alors beaucoup plus difficile aux femelles de se gorger de sang, à fond, que lorsqu'elles sont peu nombreuses pour l'attaque d'un même animal.

C'est dans cette lutte entre les moustiques et les hôtes qu'ils exploitent que réside le principe essentiel de la concurrence auquel nous faisons allusion. Il est bien évident que seules, ou presque, parviendront à se gorger suffisamment pendant la brève durée de ces attaques massives les femelles douées d'une scie maxillaire bien conformée, suffisamment puissante pour percer le tégument des hôtes-animaux dans le minimum de temps. Ces femelles bien armées qui se gorgeront de sang les premières seront aussi celles qui se reproduiront le plus rapidement et le mieux. Elles l'emporteront donc sur les femelles moins bien armées qui pourront difficilement obtenir la quantité de sang qui leur est nécessaire pour former leurs œufs. A supposer que celles-ci parviennent cependant à la ponte (ce qu'on constate effectivement pour certaines), les larves qui proviendront des individus en question seront des retardataires.

(1) Il s'agit ici de l'attaque *spontanée*. Les anophèles, lorsqu'ils sont artificiellement mis en éveil, piquent en plein jour; mais il faut pour cela qu'ils soient dérangés de leur état de repos. Dans la pratique, ces attaques de plein jour sont secondaires.

Elles seront, dès lors, vouées, pendant la saison chaude au moins, à un développement difficile, parce qu'elles trouveront les surfaces d'eau propices déjà occupées par les descendantes des femelles mieux armées.

J'ai insisté ailleurs (1923) sur l'influence de l'encombrement sur le développement des larves d'anophèles. Ces organismes essentiellement de surface se développent mieux lorsqu'ils sont suffisamment dispersés et il est facile de se rendre compte par des élevages expérimentaux que les larves jeunes, survivant dans une zone déjà occupée de façon dense par des larves plus âgées, subissent sévèrement les effets de la concurrence de ces dernières.

Pour la double raison que nous venons d'envisager, on verra donc survenir assez rapidement, si les faunes d'anophèles vouées à l'exploitation des animaux sont suffisamment denses, une sélection des individus les mieux doués sous le rapport du développement maxillaire. Les facteurs de sélection provoqueront ainsi passivement l'élévation de l'index maxillaire d'une faune zoophile dense, jusqu'à une limite qui tend à exprimer l'adaptation la plus satisfaisante de cette faune, dans son ensemble, au bétail qu'elle peut exploiter. Nous verrons plus loin si cette limite peut être considérée comme fixe, stable, et susceptible même d'apparaître dans la descendance comme un caractère héréditaire.

Si ce point de vue de la concurrence des femelles zoophiles pour l'attaque des animaux est bien fondé, il nous sera facile de lui apporter une confirmation directe en examinant comparativement l'index maxillaire des femelles gorgées de sang et celui des femelles n'ayant pu se gorger, capturées au voisinage des mêmes hôtes animaux. Si, en effet, les individus les mieux armés se gorgent plus rapidement et plus abondamment que les autres sur les hôtes locaux, nous devons observer un index plus élevé pour l'ensemble des individus ayant réussi à se gorger de sang que pour les autres. Or c'est bien ce que l'on constate (1).

(1) Bien entendu, ces recherches doivent être faites en période d'activité biologique normale des anophèles, en dehors par conséquent de la période hivernale où les prises de sang ne sont plus régulières et sont souvent suspendues, même à la chaleur.

J'ai déjà montré, dans mon premier travail sur la question (1921), qu'en étudiant comparativement l'index maxillaire d'anophèles gorgés et non gorgés, capturés dans les étables du marais vendéen, on pouvait discerner une différence appréciable, dans la moyenne des dents maxillaires, entre les deux groupes de moustiques. J'avais noté à cette époque les résultats suivants :

Moustiques non gorgés de sang : Index maxillaire . . .	14,3
Moustiques gorgés de sang : Index maxillaire ¹	16,6

De nouvelles observations complètent et confirment ces premières données.

J'ai examiné deux lots d'anophèles gorgés et non gorgés appartenant à deux des localités italiennes dont j'ai parlé plus haut, Ravenne et Bentivoglio.

Les résultats furent les suivants :

LOCALITÉS	INDEX de la faune globale	INDEX de 25 individus non gorgés
Ravenne	17,6	15,3
Bentivoglio	17,3	15,4

J'ai également repris la comparaison analogue des index maxillaires pour des anophèles de la faune de Vendée provenant de localités et d'étables différentes.

Une première localité (marais vendéen), pour une vingtaine d'anophèles provenant d'un abri à porcs, m'a fourni les résultats suivants :

Moustiques non gorgés de sang : Index maxillaire. . .	15,3
Moustiques gorgés de sang : Index maxillaire	16,9

Pour une deuxième localité, sise dans la région littorale, des anophèles capturés dans une écurie d'âne m'ont donné :

Moustiques non gorgés de sang : Index maxillaire. . .	15,6
Moustiques gorgés de sang : Index maxillaire	16,3

Ces différents résultats concordent tous, comme on le voit, pour nous permettre d'appuyer les conceptions précédemment exposées touchant l'influence de la concurrence zoophile sur l'élévation de l'armement maxillaire. Ils confirment que : *dans*

une faune dense d'anophèles zoophiles, les individus les mieux nourris sont ceux dont l'armature maxillaire est la plus développée.

Comme complément de ces indications touchant le déterminisme de la différenciation maxillaire dans les faunes, il nous faudrait également démontrer que les caractères réalisés brutalement par la sélection tendent à devenir héréditaires dans ces races zoophiles. Nous examinerons plus loin cette question en exposant les expériences qui confirment encore cette manière de voir. Disons tout de suite que si l'hérédité des caractères de l'armature maxillaire n'est pas absolue pour tous les descendants d'une même femelle, elle est cependant assez marquée pour tendre à uniformiser les index vers un chiffre voisin de l'index maternel, lorsqu'il s'agit de races bien stabilisées; pour les races encore instables, si les caractères de l'index originel ne se retrouvent pas toujours étroitement dans la descendance, celle-ci manifeste cependant, dans son ensemble, un index élevé de race zoophile.

Ainsi, l'on peut bien comprendre que les index exprimant la différenciation relative de l'armature vulnérante des maxilles, chez les femelles d'anophèles zoophiles, traduisent, dans la forme indiquée, les rapports plus ou moins faciles de la faune locale, dans son ensemble, avec les hôtes animaux. Les index peu élevés témoignent d'une alimentation large et facile des moustiques aux dépens du bétail; les index élevés signifient qu'il y a pénurie d'animaux nourriciers pour la faune, dans son ensemble, ou, ce qui revient au même, que ces hôtes de choix sont d'accès difficile.

RAPPORTS ENTRE LE DEGRÉ DE DIFFÉRENCIATION ZOOPHILE D'UNE FAUNE ET L'ÉTAT PALUSTRE. — L'insuffisance de la nourriture sanguine offerte par les animaux aux femelles d'une faune zoophile dense, phénomène dont nous lisons le contre-coup dans l'élévation particulière de l'index maxillaire, entraîne pour l'homme une conséquence quasi directe : c'est que ces faunes, mal nourries de sang, ont une tendance plus grande que les faunes bien nourries à emprunter à l'élément humain lui-même un complément d'alimentation sanguine. Malgré leurs affinités zoophiles évidentes, qui s'expriment par l'évo-

lution particulière de leur armature maxillaire, ces faunes restent cependant plus ou moins dangereuses pour l'espèce humaine. Elles sont plus redoutables, au point de vue de la transmission palustre, que les faunes zoophiles bien équilibrées au point de vue de leur alimentation sanguine, c'est-à-dire celles qui trouvent largement à se nourrir sur le bétail. Nous sommes donc amenés à étendre à la nosologie palustre les enseignements déduits de l'observation de l'index maxillaire et à établir une relation possible entre le degré relatif de différenciation maxillaire des faunes zoophiles et l'état palustre régional. A titre d'indications, j'ai marqué dans mon précédent travail qu'au delà de 15 dents, comme index moyen, les faunes d'anophèles zoophiles pouvaient être considérées comme d'autant plus dangereuses et le paludisme d'autant plus fréquent que l'index maxillaire global était plus élevé.

Si nous nous reportons aux indications présentées plus haut, dans le tableau relatif aux anophèles de différentes localités italiennes, nous y trouvons une confirmation sérieuse de cette manière de voir. Nous voyons en effet que le paludisme est noté comme fréquent dans les deux localités (Ravenne et Bentivoglio) pour lesquelles l'index maxillaire a été le plus élevé. Il est aussi plus fréquent dans la première qui a le plus fort index. Pour les autres localités, dont l'index maxillaire anophélien est plus faible, le paludisme est rare ou très rare, quand il n'est pas absent.

J'ai déjà cité comme exemple de faune zoophile en état d'insuffisance relative d'alimentation sanguine, et par suite dangereuse au point de vue palustre, la faune de Hollande. Dans mon premier travail sur la question, j'avais relevé le chiffre élevé de 16,9 comme index maxillaire global pour les quelques exemplaires d'*A. maculipennis* que j'avais pu examiner de cette région. Cette élévation particulière de l'index maxillaire était également en rapport avec la proportion relativement faible, dans cette faune, des individus bien gorgés de sang, ce qui traduit l'insuffisance du pouvoir protecteur animal, vérifiée aussi par la persistance du paludisme à *Pl. vivax* dans une partie de la Hollande.

E. Martini, qui, en 1924, a examiné également des anophèles d'Amsterdam, a constaté pour cette faune un chiffre très voisin

du nôtre : 16,83. Les observations récentes et fort bien conduites des auteurs hollandais : Swellengrebel et ses collaborateurs de Buck et E. Schoute, celles de Van Thiel, nous donnent à ce sujet des précisions importantes. Sur un très grand nombre de localités, les examens de ces auteurs montrent que le chiffre moyen de l'armature maxillaire des anophèles régionaux est voisin de 17; il peut aller jusqu'à 18 et n'est guère inférieur à 16,4. Ce sont là les chiffres les plus élevés que l'on ait jusqu'ici observés dans les régions européennes à faunes zoophiles.

Si l'on consulte, d'autre part, les indications données par Swellengrebel et ses collaborateurs sur la proportion des femelles gorgées de sang, aux différentes saisons, dans les abris à bestiaux de régions diverses, on peut reconnaître, comme nous l'avons indiqué, que cette proportion est toujours relativement faible. Même pendant les mois chauds, aux environs d'Amsterdam, par exemple, elle va de 30 à 70 p. 100 en général, rarement plus, ce qui est loin des 90 à 100 p. 100 observés constamment à cette période dans d'autres régions.

Nous ne pouvons qu'en conclure, encore une fois, que l'élévation toute particulière de l'index maxillaire, qui est à peu près générale pour les faunes de Hollande, y est en rapport avec l'insuffisance relative de l'alimentation zoophile de ces faunes. Cette insuffisance n'est pas pour surprendre, étant donné la densité extraordinaire de la population anophélienne hollandaise, où des millions de moustiques sont détruits, chaque année, par les services d'hygiène, sans qu'il y paraisse; mais, de même que l'on voit l'armature maxillaire de ces moustiques, placés par leur nombre en concurrence intense, atteindre les chiffres les plus élevés observés en Europe, de même n'y a-t-il pas lieu de s'étonner de voir que cette région est aussi celle où le paludisme sévit le plus largement encore parmi les zones franchement zoophiles de l'Europe septentrionale.

Ainsi, les relations que nous établissons entre l'élévation particulière de l'armature maxillaire d'une faune zoophile, l'insuffisance de l'alimentation sanguine pour les femelles, déduite de la proportion des moustiques gorgés, pendant les mois d'activité, dans les abris à bestiaux, et enfin la persistance, à un degré plus ou moins élevé, du paludisme dans les régions à stabulation efficiente, nous apparaissent comme confirmées

de façon très générale par les observations diverses énoncées plus haut.

S'ensuit-il pour cela que des certitudes relatives à l'état palustre d'une région puissent être déduites d'une graduation définie des index maxillaires. Peut-on formuler des rapports *absolus* entre le paludisme et les données des index? Certainement non. Les indications fournies par l'étude de l'armature maxillaire ne sont que des indications *approchées*, permettant simplement de prévoir la possibilité de rapports plus ou moins fréquents entre l'homme et les moustiques, ou d'apprécier la part relative prise par les animaux à l'entretien de la faune anophélienne. D'une part, le paludisme peut ne pas accompagner obligatoirement les manifestations d'insuffisance zootrophique déduites de l'index maxillaire des anophèles : les populations humaines locales peuvent avoir été protégées contre les porteurs de virus; le traitement intensif, la quininisation peuvent avoir éteint l'endémie locale, etc. D'autre part aussi, certaines raisons d'ordre particulier, que nous allons développer maintenant, font qu'il n'est pas possible d'accorder une valeur pratique absolue aux chiffres de l'index maxillaire, comme mesure exacte d'appréciations d'ordre antipaludique. Nous allons montrer en effet que, suivant certaines circonstances, les index maxillaires des anophèles sont appelés à des *variations* qui ne permettent pas d'établir, d'après les mensurations, une échelle fixe et rigoureusement uniforme pour toutes les régions de la zone d'habitat du moustique considéré, qui puisse constituer une base documentaire antipalustre.

VARIATIONS DE L'INDEX MAXILLAIRE D'APRÈS LA NATURE DES ANIMAUX-HÔTES. — Nous avons reconnu jusqu'ici que l'index maxillaire de l'espèce anophélienne envisagée subissait, suivant les conditions générales d'alimentation courante des femelles, soit aux dépens de l'homme, soit aux dépens des animaux, des variations fondamentales. Au-dessous de 14 dents comme moyenne globale, avec moins de 50 p. 100 d'anophèles possédant un index >14 , nous pouvons différencier des races non zoophiles (1) vivant surtout aux dépens de l'homme. Au-

(1) Je répète ici que le terme de « non zoophile », est employé une fois

dessus de ces chiffres, nous reconnaissons des races à zoophilisme différencié, chez lesquelles nous voyons l'index tendre à s'élever de plus en plus, en fonction de la concurrence qui s'exerce entre les moustiques pour l'attaque des animaux.

On pouvait se demander, puisque les nécessités de la lutte pour l'existence imposent à une faune zoophile un renforcement plus ou moins accentué de l'armature vulnérante des pièces maxillaires, si la nature des animaux intervenant particulièrement comme hôtes des moustiques, dans une localité ou région donnée, n'entraîne pas en ligne de compte dans le degré relatif de ce renforcement.

Des espèces animales à cuir particulièrement épais doivent nécessiter des scies maxillaires plus puissantes, pour être attaquées avec succès, que des espèces à peau fine et facilement vulnérable. L'index maxillaire devra donc offrir une élévation plus marquée, si, dans une localité, prédominent des hôtes du premier type, que dans le cas du second.

On était également en droit de supposer, si l'on admet le phénomène de la concurrence comme facteur essentiel de la modification des index d'armature, que, suivant la nature même des hôtes, une certaine sélection doit s'opérer directement dans les différents abris : les femelles dont l'armature maxillaire s'harmonise le mieux avec la nature des téguments d'un hôte donné se grouperont sans doute de préférence au voisinage de cet hôte.

Afin d'apprécier le bien-fondé de cette façon de voir, j'ai étudié l'index maxillaire de différents lots d'*A. maculipennis* recueillis tous dans la même localité, mais auprès d'hôtes d'espèces différentes. J'ai reçu du Dr Bragaglia, par l'intermédiaire du Prof. Franchini, des lots d'anophèles provenant d'une même localité de la province de Bologne (Marmorta), où ils ont été capturés en octobre 1922, tous à la même époque, mais au contact d'hôtes différents, dans des abris à bestiaux ou des habitations humaines. Le Dr Bragaglia, que je remercie vivement ici, ainsi que M. Franchini, a eu soin de réunir dans des tubes séparés les individus recueillis et de me les transmettre

pour toutes, par abréviation, au lieu de l'expression de « races à zoophilisme indifférencié ». Dans mon esprit il ne signifie pas que ces anophèles ne soient pas sensibles à l'attraction animale.

avec les indications nécessaires relativement aux hôtes. Le tableau ci-après exprime les résultats obtenus.

NATURE DES HÔTES	NOMBRE de moustiques examinés	INDEX maxillaire	POURCENTAGE à plus de 14 dents
Hommes (maisons) . .	25	14,6	53
Chevaux et porcs . .	190	14,9	70
Bœufs et buffles . . .	37	16,0	93
Buffles noirs	46	13,2	80
Chevaux et porcs . .	33	15,5	69
Porcs	20	16,1	90
Bœufs et veaux . . .	28	16,6	100

On voit qu'effectivement des différences importantes s'observent dans les index suivant la nature des hôtes exploités. Ce sont les moustiques groupés au contact des bœufs et des porcs qui ont révélé l'armature maxillaire moyenne la plus puissante. Pour les chevaux, les différences auraient été sans doute plus marquées encore, si quelques moustiques capturés dans les porcheries n'avaient été mêlés à ceux des écuries. On notera que deux envois provenant des étables à bœufs, de locaux différents, ont fourni exactement le même index : 16,0. Ce sont enfin les anophèles rencontrés au voisinage de l'homme qui ont présenté l'armature maxillaire moyenne la plus faible (14,6).

Dans le marais vendéen, au cours de plusieurs investigations pratiquées à la même saison (été), mais à quatre années de distance, j'ai étudié comparativement, pour la même localité, la différenciation maxillaire des moustiques capturés dans deux abris différents, au contact d'animaux différents. Les résultats ont été les suivants :

ANNÉE	NOMBRE de moustiques	ANIMAUX hôtes	INDEX maxillaire
1923.	30	Cheval, génisse.	15,7
1923.	30	Porcs.	16,0
1927.	30	Cheval, génisse.	15,4
1927.	30	Porcs.	15,7

Les différences, quoique d'amplitude faible, ne sont pas

négligeables en raison de leur constance, qui est frappante. Il y a d'autant plus lieu d'en tenir compte que la faune locale envisagée est une faune remarquablement stable dans son index maxillaire global, ainsi que nous le montrerons plus loin. Nous voyons que l'index des individus capturés au voisinage des porcs est constamment un peu plus élevé que celui des moustiques de la faune générale.

Il apparaît donc que l'index maxillaire des moustiques groupés au voisinage d'hôtes divers est susceptible de présenter des variations plus ou moins notables suivant la nature des hôtes fréquentés. Nous en concluons que les femelles ont tendance à se grouper au voisinage des hôtes dont l'attaque est la mieux appropriée à leurs moyens vulnérants. Les hôtes à téguments épais groupent de préférence autour d'eux les femelles les mieux armées de la faune et inversement.

Cette adaptation apparente des femelles à certaines catégories d'hôtes, nous ne l'interprétons pas, pour le moment, comme le résultat d'une attraction spéciale, encore moins d'un instinct particulier au service des moustiques. Nous voulons l'envisager simplement comme le produit d'une sélection, d'un triage obligatoire qui s'opère en raison de la concurrence, au cours de la période d'activité spontanée des insectes. Il se passe pour la faune partielle attaquant les hôtes séparés ce que nous avons signalé pour l'ensemble de la faune anophélienne, qui se sélectionne suivant les difficultés d'attaque des hôtes. Les femelles qui ne parviennent pas à se gorger rapidement, au cours de la brève période d'attaque, sur un type d'hôte bien défendu, passent à d'autres hôtes, tandis que les concurrentes mieux armées restent dans la place après s'être gorgées. Si l'on capture ensuite les individus groupés au voisinage d'un même hôte, il en résulte que l'on verra prédominer dans cette faune les moustiques dont les moyens d'attaque se prêtent le mieux à l'exploitation de cet hôte. La sélection qui s'exerce dans les abris des animaux divers, entre femelles en période de concurrence, tend à proportionner, dans une certaine mesure, la puissance relative de l'armature vulnérante des femelles à la puissance de protection naturelle des espèces animales exploitées.

Adaptation dentaire des anophèles à leurs hôtes. Tendance à

la prédominance d'un type dentaire uniforme au voisinage d'hôtes de type tégumentaire uniforme. Prédominance de plusieurs types dentaires au voisinage d'hôtes hétérogènes. — Nous pourrions trouver une confirmation de cette notion en étudiant les courbes de fréquence des types de dentition maxillaire des anophèles capturés dans des locaux divers, au voisinage d'hôtes tantôt de même espèce, tantôt d'espèce différente. Les documents que je présente ici puisent leur intérêt spécial dans la longue durée des observations faites dans des pays très différents.

En général, les graphiques que l'on établit d'après les proportions relatives des différents types d'armature maxillaire, pour des moustiques capturés en bloc dans une localité, sans tenir compte des hôtes particuliers au voisinage desquels ils ont été rencontrés, accusent toujours la prédominance de deux ou plusieurs types de dentition principaux. Les courbes présentent des ascensions nettes, en pointe, correspondant aux types les plus fréquents.

Par exemple, le graphique de la figure 2, page 565, qui donne en pointillé les courbes de fréquence des dentitions maxillaires, pour la faune globale des anophèles italiens de Marmorta, en 1922, permet de constater jusqu'à trois types de prédominance, un à 16 dents, un à 17 et un autre à 18 dents, pour cette faune.

De même, le graphique publié dans mon premier travail, qui correspond à la faune globale d'anophèles rencontrés dans les étables du marais vendéen en 1921, nous montre l'abondance particulière ou la prédominance nette de deux types de dentitions maxillaires pour ces moustiques : un type à 15 dents, l'autre à 17 dents.

Cette tendance à la prédominance marquée de plusieurs types dentaires dans une population mêlée d'anophèles zoophiles d'une même région, voire d'une même localité, m'avait frappé dès le début de mes recherches sur la différenciation maxillaire de ces moustiques. La raison de la coexistence de plusieurs types principaux d'armature maxillaire, de richesse et de puissance différente, dans la même faune, ne m'apparaissait pas nettement d'emblée, et c'est ce problème que j'ai tenu à étudier de plus près.

La solution du phénomène, qui ne pouvait apparaître lors d'une étude massive et globale des faunes, est au contraire

facile à déduire, si l'on étudie les moustiques sélectionnés d'après leurs attractions spontanées, dans la nature, au voisinage d'hôtes spéciaux, de type homogène, qu'ils peuvent exploiter à loisir et en toute liberté d'allures.

Les courbes de fréquence des types de dentition établies pour les femelles capturées au voisinage d'un hôte unique ou de plusieurs hôtes, exactement de même espèce, permettent de constater que dans de telles conditions d'hôtes les courbes se simplifient, en ne faisant plus guère ressortir qu'un seul type nettement prédominant d'armature maxillaire. Si, au contraire, le type d'hôte exploité n'est pas strictement uniforme, si, par exemple, nous avons, dans le même local, des bovins de races diverses et des buffles, ou des chevaux et des porcs, la faune capturée dans le local manifeste le groupement de plusieurs types dentaires prédominants. On se rendra facilement compte du phénomène, en examinant la série des graphiques donnés ci-après (fig. 7-10) dans lesquels, comme précédemment, sont indiqués : verticalement le nombre des individus, horizontalement le nombre de dents de l'armature maxillaire (en prenant la moyenne pour les deux maxilles de la même paire). Il semble que les femelles de même puissance dentaire se groupent au voisinage de certains types animaux, de préférence à d'autres, et que les préférences varient suivant le degré de l'armement maxillaire. Il en résulte que, dans une région où des hôtes animaux divers se rencontrent, la faune d'anophèles peut développer un nombre varié de types dentaires, dont plusieurs prédominent nettement sur les autres ; tandis que dans une région peu variée dans ses hôtes l'armature maxillaire tend à s'uniformiser, et l'on retrouve alors le caractère déjà indiqué pour les faunes non zoophiles : la tendance à la prédominance nette d'un seul type d'armature maxillaire. Lorsque nous voyons, dans une même population anophélienne, tendre à prédominer simultanément plusieurs types nettement distincts d'armature maxillaire, nous sommes fondé à penser que cette faune exploite plusieurs types également distincts d'hôtes locaux.

Par exemple, le graphique de la figure 7 exprimant la numération maxillaire de moustiques capturés en 1922 et 1924 à Marmorta, au voisinage d'animaux uniformes (bœufs blancs), n'accuse qu'un seul type net de prédominance : en 1922, les

formes à 15 dents; en 1924, les formes à 16 dents. La comparaison de ces graphiques à un seul maximum avec celui de la faune globale locale en 1922, où trois maxima au moins sont constatés (page 565), est vraiment suggestive.

S'il s'agit par contre d'espèces animales moins uniformes, comme pour la courbe figure 8, qui correspond à des moustiques capturés dans des étables à bœufs variés de cette même région italienne, en 1926, nous voyons apparaître, à côté du type d'armatures maxillaires prédominantes, de 15,5 ou 16 dents,

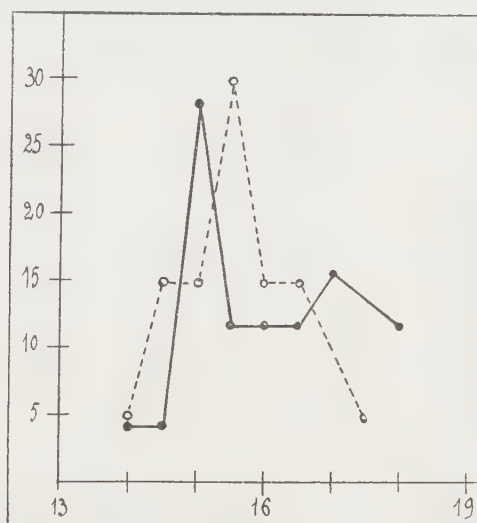


FIG. 7. — Graphiques de numération d'armatures maxillaires relevés à deux années différentes (1922-1924) pour une population d'anophèles italiens (Marmorta) exploitant un type d'hôte uniforme (bœufs blancs).

En trait plein, année 1922 : prédominance d'un type uniforme à 15 dents. En pointillé, année 1924 : prédominance d'un type uniforme à 16 dents.

un autre de 17 dents. Le graphique figure 9, correspondant aux moustiques capturés dans la même localité en 1922 au voisinage de buffles, est aussi un graphique simple avec prédominance uniforme des individus de 14,5 à 15 dents.

Le graphique figure 10, correspondant à des anophèles du marais vendéen capturés dans la même porcherie à quatre ans d'intervalle et à la même saison, nous montre pour chaque année d'examen une courbe à peu près uniforme 39, avec pré-

dominance d'un seul type maxillaire : en 1923 du type à 15 dents, et en 1927 du type à 16 dents. Il se peut que l'âge relatif et, par suite, l'épaisseur de la peau des animaux exploités aient varié entre les deux époques d'examen, ce qui expliquerait la substitution en 1927 du type à 16 dents au type à 15, comme armature maxillaire prédominante. En 1923 le local était occupé par deux pores de taille moyenne, en 1927 par un seul animal de très forte taille.

Le graphique figure 11 fait bien ressortir l'influence de l'uniformité des hôtes exploités sur l'uniformisation des courbes d'index maxillaires. Il s'agit encore d'anophèles capturés à quatre années de distance dans un même local renfermant, en 1923, une génisse et un cheval; en 1927, une génisse seule.

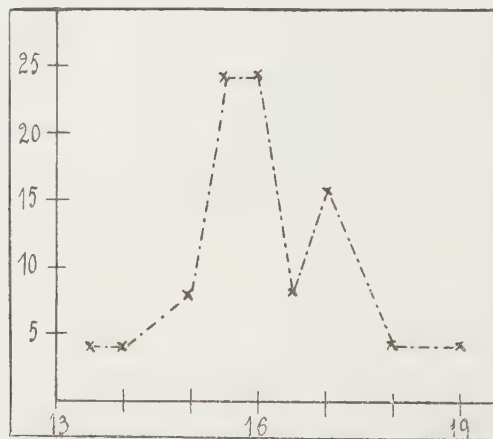


FIG. 8. — Graphique des examens maxillaires relevés en 1926, pour une population d'anophèles italiens (Marmorta) exploitant des bœufs de type varié. Tendence à la prédominance d'un type dentaire à 17 dents, à côté du type prédominant normal à 15,5-16 dents.

Nous voyons que le mélange des hôtes se traduit en 1923 par la prédominance de deux types d'individus dont la puissance maxillaire est différente, un type à 15,5 dents et un type à 17 dents. Au contraire, en 1927, où nous ne rencontrons plus qu'un seul type d'hôte exploité (génisse), les individus à 15,5 dents prédominent seuls.

Ces exemples suffisent à montrer la réalité de l'adaptation

des femelles aux types animaux les plus facilement exploitables pour elles. Je n'ose aller jusqu'à penser, mais il serait possible qu'il en soit ainsi, que dans certaines régions, où ces phénomènes de concurrence et de sélection zoophile se perpétuent depuis des siècles, il se soit développé réellement du même coup une véritable sélection des préférences trophiques ; que les types de femelles, caractérisées par une armature maxillaire de puissance déterminée, manifestent aussi une attraction toute particulière pour les espèces animales locales qui peuvent le mieux les nourrir. Ainsi s'expliqueraient plus facilement les délicats phénomènes de sélection par espèces animales que nos graphiques font ressortir. Il serait même possible, mais nous

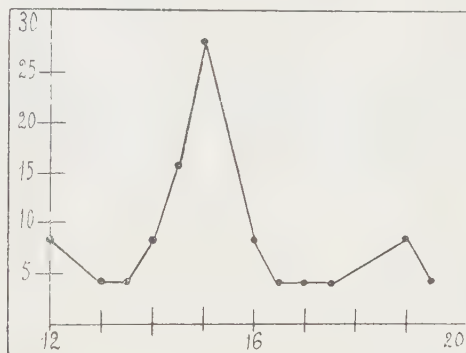


FIG. 9. — Graphique des examens maxillaires relevés en 1922 pour une population d'anophèles italiens (Marmorta), exploitant un type d'hôte uniforme : buffles noirs.

Prédominance d'un type dentaire uniforme (14,5-15 dents).

n'avons pas encore de renseignements précis sur ce point, que les individus les moins armés des faunes zoophiles denses y présentent une tendance particulière à se rapprocher de l'homme, constituant ainsi, parmi une population d'affinités zoophiles très poussées, une sorte de reliquat ayant conservé l'attraction originelle vers l'espèce humaine. En fait j'ai pu noter, en 1922, un index maxillaire peu élevé (14,6) pour les anophèles recueillis dans les maisons, à Marmorta, alors que dans les écuries ou étables de la même localité italienne l'index se montrait généralement supérieur à 15. Cette persistance

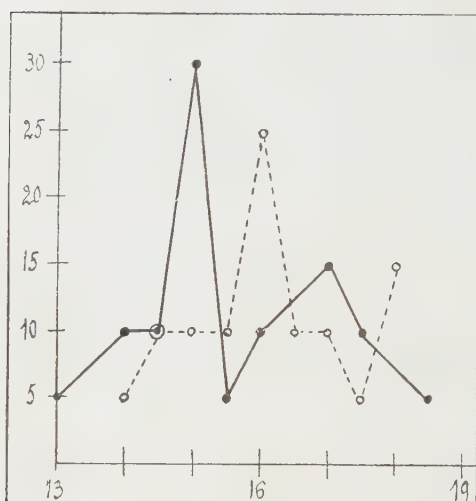


FIG. 10. — Graphique de deux séries d'examen maxillaires effectués à quatre ans d'intervalle, dans la même porcherie du marais vendéen : en trait plein 1923, en pointillé 1927. Le type d'hôte exploité est *uniforme* (porcs) : prédominance d'un type dentaire *uniforme* à 15 dents (1923), 16 dents (1927).

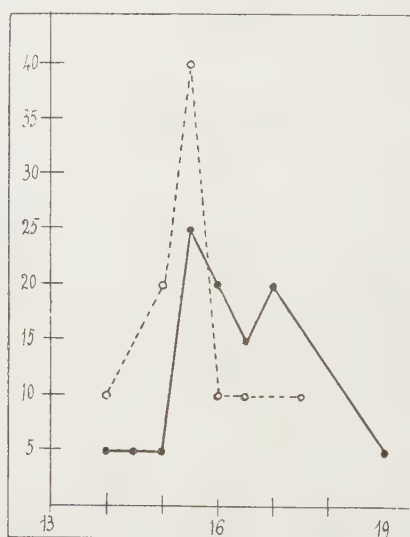


FIG. 11. — Graphique d'examen maxillaires relevés à quatre années de distance pour la population anophélienne d'un même local du marais vendéen.

En 1923 (trait plein) exploitation de deux types d'hôtes différents (génisse, cheval) : courbe hétérogène accusant la prédominance de deux types dentaires différents, l'un à 15,5-16 dents, l'autre à 17 dents. En 1927 (trait pointillé) exploitation d'un type d'hôte *uniforme* (génisse) : prédominance d'un type dentaire *uniforme* à 15,5 dents.

partielle des affinités pour l'homme de certains individus habituellement écartés, par la concurrence, de l'ambiance animale, est peut-être la raison de la persistance, dans de vastes régions bien ouvertes à la zoophilie comme la Hollande, de certains foyers palustres. Il faut dire cependant que ces foyers apparaissent nettement liés à la sédentarité hivernale des anophèles et que d'autres causes que les affinités trophiques interviennent ici pour fixer certains anophèles au voisinage de l'homme.

Quoi qu'il en soit, la conclusion que nous devons immédiatement tirer des déductions qui précèdent, c'est que les renseignements fournis par l'étude des index maxillaires sont par essence variables suivant les hôtes. Ils n'auront de valeur, pour une localité donnée, que s'ils groupent un mélange de moustiques provenant d'hôtes ou d'abris différents. Les index doivent avant tout exprimer des données portant sur la population anophélienne générale de la localité.

On est également amené à penser que si les types d'animaux prédominants ou les races viennent à être modifiés dans une région donnée, l'index maxillaire des anophèles de cette région subira des variations en conséquence.

III. — L'index maxillaire et les conditions hydrologiques.

VARIATIONS DE L'INDEX MAXILLAIRE EN FONCTION DES VARIATIONS HYDROLOGIQUES.

FAUNES ZOOPHILES STABLES; FAUNES ZOOPHILES INSTABLES.

Non seulement l'index maxillaire, exprimant le degré moyen de différenciation maxillaire de la faune, subit, comme il était à prévoir, d'après la théorie, le contre-coup apparent des différences dans les particularités tégumentaires des hôtes, mais encore on est également amené à penser qu'il doit également varier suivant les circonstances hydrologiques régionales. Si l'armature maxillaire des moustiques évolue suivant les impulsions déterminantes de la concurrence, il est à prévoir que les modifications imprimées aux lieux de développement larvaire, c'est-à-dire au système d'eaux stagnantes locales, retentiront plus ou moins directement aussi sur l'évolution de l'index

maxillaire. C'est, en effet, d'après notre théorie, l'eau elle-même qui est le grand facteur de la concurrence. Ce sont les surfaces d'eau qui règlent, comme nous l'avons expérimentalement montré (1923), le développement anophélien; si bien que tout le système de l'équilibre zootrophique repose avant tout sur l'équilibre des surfaces d'eau.

Si notre manière de voir est exacte, si tous les rouages de ce système complexe sur lequel est basée notre conception du zoophilisme anophélien, sont bien ceux que nous avons indiqués, nous devons donc nous attendre à constater, sur l'armature maxillaire d'une faune d'anophèles, le reflet des conditions hydrologiques régionales, comme nous constatons sur elle celui des conditions d'alimentation sanguine locales. Suivant que nous étudierons l'armature maxillaire des anophèles dans des régions à équilibre hydrologique instable, ou dans des régions à surfaces d'eau stabilisées par le travail humain, nous devons observer également des index mobiles ou variables, ou des index stabilisés, fixes.

Or c'est bien, en effet, ce que l'on constate, comme nous allons le démontrer.

I. FAUNE D'ANOPHÈLES DE RÉGIONS A ÉQUILIBRE HYDROLOGIQUE STABLE. — Nous étudierons d'abord le cas des faunes d'anophèles appartenant à des régions stabilisées hydrologiquement depuis longtemps. Comme premier exemple de ce type, je choisirai la région des marais vendéens, plus particulièrement du marais du nord ou marais breton, qui paraît mieux stabilisé que les marais charentais et que j'ai étudié depuis sept ans d'une façon continue.

Cette région, anciennement conquise sur la mer, a été progressivement aménagée depuis plusieurs siècles, grâce à un système de drainage très régulier, en un réseau de pacages, dits prés-marais, dont l'inondation est parfaitement réglée. Un système de vannes assure l'écoulement propice des eaux en excès dans les canaux, ou, au contraire, les retient d'une façon durable quand le besoin se fait sentir. Chaque lopin de terre est en effet complètement enclos par des fossés d'irrigation larges et profonds, qui communiquent les uns avec les autres. En hiver, les eaux débordent de ces canaux et les pâtures se

trouvent largement inondées. Mais, dès le printemps, l'écoulement des eaux en excès étant assuré, il ne subsiste plus d'eaux stagnantes que dans tout le système des canaux de drainage, qui demeurent plus ou moins remplis d'eau durant toute la saison chaude.

Ce système de régulation hydrologique a pour conséquence de maintenir à peu près constantes, pendant toute l'époque du développement anophélien, les surfaces d'eau propices aux larves. Si l'été est sec, le niveau de l'eau baisse plus ou moins dans les canaux, mais c'est la profondeur seule qui varie. Les surfaces d'eau demeurent d'une année à l'autre sensiblement identiques. Il en résulte que dans les marais vendéens nous n'observons jamais de fluctuations sensibles dans l'abondance relative des anophèles. Au cours d'observations suivies, qui durent depuis plus de sept ans, nous rencontrons dans les mêmes locaux, aux mêmes saisons, sensiblement les mêmes quantités de moustiques. La faune d'anophèles se développe chaque année de façon très dense. Elle échappe aux fluctuations imposées par les conditions climatiques dans d'autres régions humides, non régularisées.

Or cette faune d'anophèles, parfaitement réglée dans sa production même par la régularisation locale des eaux stagnantes, se montre également équilibrée d'une façon remarquable au point de vue de ses aptitudes zoophiles. J'ai montré autrefois (1920) comment le zoophilisme se manifestait ici d'une façon directe, par l'expérience, puisqu'en pénétrant, à l'époque de l'activité spontanée maxima des anophèles, dans des locaux infestés de ces moustiques, on n'était aucunement harcelé par eux. Les anophèles vont au bétail, par préférence trophique manifeste, et négligent l'homme.

Il est facile de se rendre compte, dans cette région, que la protection exercée par les abris animaux, où se concentre la quasi-totalité d'une population d'anophèles excessivement dense, n'y est plus simplement liée à la fixation passive des moustiques par des abris interposés en écrans ou en rideaux, entre les canaux de développement et l'habitation humaine. On constate en effet que, dans les marais vendéens où les différents domaines sont isolés dans un cadre de canaux permanents, la position des écuries et des étables est absolument

quelconque, par rapport à la direction de provenance des moustiques. Ceux-ci se développent dans toute l'étendue du réseau et vont se concentrer *activement* dans les locaux à bestiaux, souvent moins immédiatement accessibles que l'habitation elle-même (fig. 12). Cet appel vers les abris animaux, qui est réalisé par le libre jeu du zootropisme, réalise la *déviatio*n spontanée de la majeure partie des moustiques. Le pouvoir protecteur animal est donc ici d'une forme plus

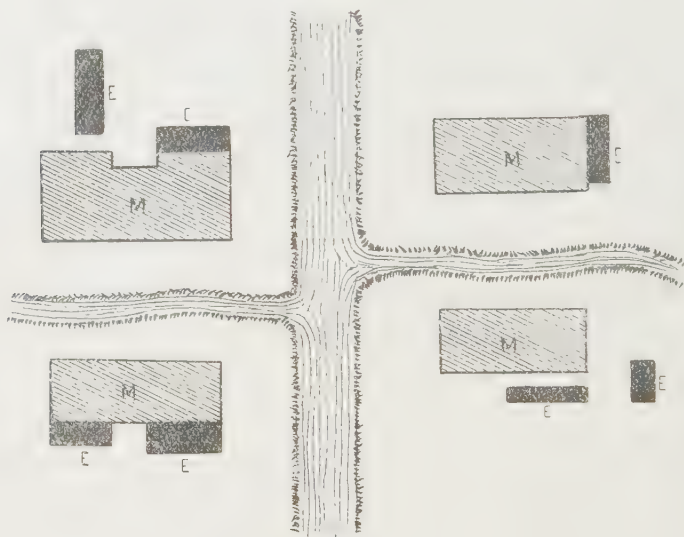


FIG. 12. — Schéma précisant les conditions de régulation hydrologique dans le marais vendéen et les circonstances de *déviatio*n anophélienne locale.

Un réseau de canaux permanents sépare l'une de l'autre, en les entourant entièrement, les différentes habitations. Le développement anophélien s'effectue librement dans toute l'étendue des canaux. Les abris à bestiaux *E* se trouvent placés tantôt latéralement, tantôt en arrière du corps de logis *M*, en *positio*n quelconque par rapport à la direction de vol des anophèles qui proviennent de toutes les parties du réseau. Il n'y a plus ici simple *fixatio*n des moustiques par les étables interposées en écran, mais *déviatio*n active vers les abris animaux, sous l'influence du zootropisme.

complexe que dans le premier cas que nous avons envisagé, pour les races non différenciées dans le sens zoophile. C'est un pouvoir déviateur *actif*, ou du 2^e degré.

J'ai suivi à différentes années, depuis 1921, l'index maxillaire global de moustiques capturés dans des locaux différents, au

contact d'hôtes variés, dans cette région de marais. Les résultats de ces observations sont exprimés dans le tableau ci-après.

ANNÉES	INDEX maxillaire	POURCENTAGE à plus de 14 dents
1921.	15,6	85
1922.	13,6	87
1924.	13,5	80
1925.	13,4	88
1927.	15,7	81

On voit qu'au cours de sept années d'observations l'index maxillaire n'a pas subi de variations appréciables. Il est demeuré remarquablement stable, comme le fait ressortir le graphique de la figure 13.

Cette fixité remarquable de l'index maxillaire pour la faune anophélienne des marais de Vendée apparaîtra encore plus frappante si on la compare aux faunes instables (fig. 14) que nous étudierons plus loin. Il est manifeste que nous nous trouvons ici en présence d'une faune de moustiques parfaitement adaptée à des conditions de vie régularisées. Il y a bien équilibre entre les conditions du développement larvaire anophélien, les ressources sanguines fournies par les animaux et les moyens d'attaque dont disposent les femelles pour exploiter ces ressources alimentaires. C'est cet ensemble de facteurs biologiques qui définit ce que j'ai appelé *l'équilibre zootrophique*; il garantit à la faune d'anophèles, par une adaptation zoophile parfaite, l'exploitation régulière de la faune animale et à l'homme le maximum de sécurité par rapport aux circonstances locales, tant que les conditions du système qui le régissent ne changeront pas.

La race anophélienne des marais de Vendée peut-être conçue comme une *race zoophile stable*. Et il est facile de vérifier que les anophèles de cette région se trouvent bien dans un état satisfaisant d'alimentation sanguine courante équilibrée aux dépens des animaux. Si l'on pénètre dans un abri renfermant des femelles, gorgées de sang ou non, il est exceptionnel, comme je l'ai dit plus haut, de voir quelques-uns de ces moustiques attaquer l'homme, même lorsqu'ils sont en état actif. Mais si l'on soumet un lot de ces femelles à un jeûne de quelques jours et qu'ensuite on les place en liberté dans une pièce habitée, close,

on les voit, même en plein jour, chercher à piquer avec insistance. Cette expérience sur laquelle j'ai insisté antérieurement (1923), et que j'ai pu répéter plusieurs fois, montre bien qu'au moment où on les capture ces insectes étaient placés en état d'équilibre alimentaire, mais cet équilibre a été rapidement détruit par le jeûne artificiel. Dans la nature la faune est équilibrée de manière à satisfaire au jeu normal du zootropisme (1).

La Hollande côtière paraît également représenter une région

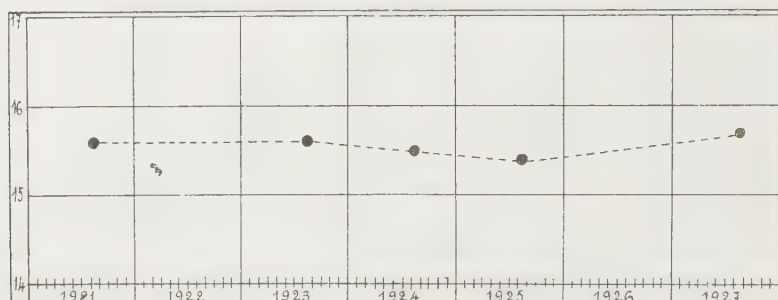


Fig. 13. — Race zoophile stable. Graphique des index maxillaires successifs relevés de 1921 à 1927 dans la même localité des marais vendéens. Les dates d'examen sont indiquées par les points noirs. La ligne pointillée qui joint ces points fait ressortir la *stabilité* remarquable de l'index qui oscille pour les différentes années entre 15,4 et 15,7 (comparer avec le graphique de la figure 13). En ordonnée les valeurs de l'index.

à régime hydrologique sensiblement stabilisé, sauf pour certaines parties de la Hollande septentrionale qui sont encore

(1) Il n'est pas inutile d'insister à nouveau sur ces faits pour mettre en garde certains auteurs contre la tendance à dépasser notre point de vue, en interprétant le zootropisme comme une acquisition absolue et définitive. Comme cette propriété acquise dépend avant tout du milieu et notamment des circonstances hydrologiques locales, elle ne se maintiendra pas si les circonstances qui lui ont donné naissance cessent d'agir. Nous le montrerons plus loin, à propos de la race instable de la Vendée littorale qui coexiste, pour ainsi dire, avec la précédente stabilisée, sans se mélanger à elle. On ne peut donc espérer introduire efficacement une race culicidiennne zoophile dans une région où il n'en existe pas, si les conditions locales, qui n'ont pas permis antérieurement l'avènement de la zoophilie, ne sont pas modifiées préalablement dans ce sens. Une extension erronée et abusive des données du zoophilisme risque de discréditer les principes de la prophylaxie animale, plutôt que de les servir. Il n'est pas légitime de parler de races définitivement androphobes ou misanthropes; ce sont là des termes excessifs qui ne correspondent pas à la réalité.

soumises à des inondations imprévues (Swellengrebel, 1924). Dans l'ensemble, le système de régulation des surfaces d'eau qui fonctionne en Hollande a pour effet, comme en Vendée, de rendre sensiblement constantes les eaux stagnantes dans leur étendue. Or, si l'on considère les chiffres donnés à plusieurs années d'intervalle par Martini, par de Buck et les auteurs hollandais, et par moi-même, pour l'index maxillaire des anophèles locaux, on ne peut qu'être frappé par la constance générale des nombres. Il est, pensons-nous, permis d'en déduire

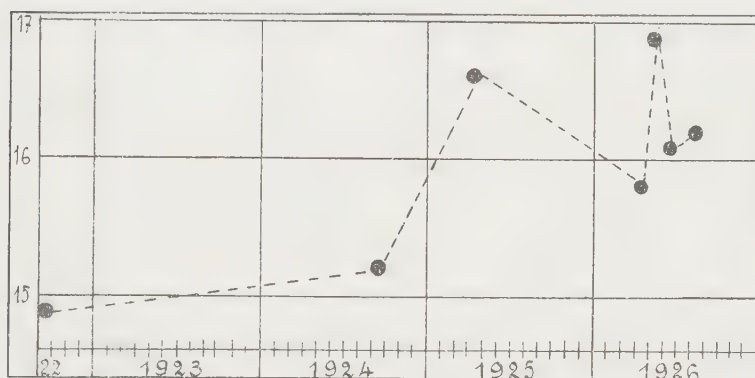


FIG. 14. — Race zoophile instable. Graphique des index maxillaires successifs relevés de 1922 à 1926, pour une même population anophélienne non stabilisée, à Marmorta (Province de Bologne). Les dates des examens sont marquées par les points noirs. Les oscillations de la ligne pointillée traduisent les variations continues de l'index aux différentes années (comparer avec le graphique 13 d'une race zoophile stable).

Les valeurs d'index sont exprimées en ordonnée.

que cette faune zoophile est aussi une faune stabilisée, au moins dans un grand nombre de localités des polders.

II. FAUNES D'ANOPHÈLES DE RÉGIONS A ÉQUILIBRE HYDROLOGIQUE INSTABLE. — Si maintenant nous examinons une faune zoophile d'anophèles provenant de régions où les travaux d'assèchement partiel et de régularisation des eaux stagnantes n'ont pas encore été poussés jusqu'à un degré suffisant pour assurer la stabilité des surfaces d'eau, nous constatons, par contre-coup, que l'index maxillaire des moustiques locaux est lui-même frappé d'instabilité.

Grâce à l'obligeance de M. Franchini, directeur de l'École de médecine tropicale de Bologne, et de son ami, le Dr Bragaglia, qui ont bien voulu m'adresser avec constance des lots d'anophèles italiens, j'ai pu suivre pendant quatre années successives une même faune d'*A. maculipennis*, de la localité déjà signalée précédemment, Marmorta, dans la province de Bologne. Les captures étaient faites avec beaucoup de soin, toujours dans les mêmes locaux, par le Dr Bragaglia qui me les a fait parvenir avec toutes les indications nécessaires.

Les résultats de l'examen de l'index maxillaire, portant sur l'ensemble des moustiques de différents locaux, furent les suivants.

ANNÉES	MOIS de capture	INDEX maxillaire général	NOMBRE de moustiques examinés	ANIMAUX hôtes
1922 .	Septembre-octobre.	14,9	180	Bœufs, chevaux, pores, etc.
1924 .	Septembre.	15,2	98	Bœufs, pores.
1925 .	Avril.	16,6	78	Bœufs, pores.
1926 .	Avril	15,8	88	Bœufs, chevaux, pores.
1926 .	Mai.	16,8	70	Bœufs.
1926 .	Juin.	16,1	70	Bœufs.
1926 .	Juillet-août.	16,2	50	Bœufs.

On voit ici des fluctuations importantes se manifester dans la série des index relevés dans les différentes années. Le graphique ci-dessus (fig. 14) rend expressive cette instabilité essentielle : la courbe part d'un minimum correspondant à 1922, pour s'élever à un premier maximum constaté en 1925 ; puis nouvelle baisse au printemps de 1926, suivie d'un nouveau maximum en mai de la même année et d'une régression légère ensuite.

Quelles peuvent être les raisons de pareilles fluctuations ? La température n'est évidemment pas en cause ici, plus qu'ailleurs, et d'ailleurs les variations se montrent indépendantes des époques de capture. La nature des hôtes-nourriciers n'est pas non plus en cause, puisque les moustiques proviennent toujours des mêmes étables. Les résultats exposés dans le tableau ci-dessus comportent généralement un mélange de moustiques provenant d'hôtes divers. Mais j'ai pris soin de contrôler ces variations, également par types d'animaux-hôtes

déterminés. Nous trouvons, en effet, pour les étables à porcs les index suivants; 1922 : 16,4 ; 1924 : 15,2, 1925 : 16,5; pour les étables à bœufs : en 1922 : 16,0 ; 1924 : 15,5; 1925 : 16,8 ; 1926 au printemps 16,8, puis 16,2.

Une seule interprétation plausible du phénomène me semble pouvoir être proposée. Elle est déduite des renseignements obtenus sur les conditions hydrologiques et climatiques locales.

La région de Marmorta, située aux confins de la province de Bologne, est une région de marais et de rizières où le drainage n'est encore qu'à ses débuts. L'instabilité des conditions hydrologiques est traduite par des modifications considérables, d'une année à l'autre, dans l'étendue et l'importance des eaux stagnantes, et, par suite, dans l'abondance relative des moustiques. Suivant les années, la faune d'anophèles est plus ou moins dense; et cette instabilité se reflète, suivant le mécanisme que nous avons exposé, dans la valeur des index maxillaires de la faune.

En 1922, par exemple, une note que le Dr Bragaglia avait jointe à son envoi précise que l'année a été *exceptionnellement sèche*. Les vallées sont à peu près exemptes d'eaux stagnantes et les moustiques *exceptionnellement rares*. Au contraire des années précédentes, il est possible de se tenir le soir à la fraîcheur du dehors « sans s'apercevoir de leur présence ».

Comme conséquence de cette rareté particulière des anophèles, à une période où les surfaces stagnantes ont été réduites à un minimum, nous notons, en fin de saison (sept.-oct.), un index maxillaire global particulièrement faible. Il est facile de comprendre que, les moustiques étant beaucoup moins nombreux, les facteurs de concurrence pour l'attaque du bétail disponible cessent d'agir avec toute leur intensité. Les femelles mieux armées ne sont plus autant favorisées, au détriment des autres, que lorsque le nombre des moustiques est élevé. Par suite, les femelles à armature maxillaire réduite ne sont plus éliminées avec l'âpreté courante. Les influences sélectionnantes ne provoquent donc plus l'ascension nécessaire de l'index maxillaire. La faune, cette année-là, se comporte comme une faune zoophile largement nourrie par le bétail : c'est une faune à index maxillaire relativement peu élevé, et la proportion des

moustiques gorgés, par rapport aux non gorgés, s'y montre effectivement très forte : j'ai noté une moyenne de 90 p. 100 de femelles pleines de sang, dans mes envois.

En 1923-1924, années plus humides que la précédente, mais sur lesquelles je n'ai pas eu de renseignements précis, d'ordre hydrologique, la faune des moustiques, extrêmement réduite à la fin de 1922, a dû se rétablir lentement vers une densité plus normale.

On voit aussi se relever lentement l'index global, vers l'automne de 1924.

En 1925, d'après les renseignements obtenus, les pluies ne furent pas très abondantes, mais des eaux stagnantes nombreuses se rencontrèrent au début, restes des pluies de l'année précédente. Les moustiques s'observent dès le printemps en grand nombre.

Aussi, en avril, observons-nous une élévation toute particulière de l'index, qui a dû décroître progressivement vers l'arrière-saison, en raison de la rareté relative des pluies qui nous a été mentionnée pendant le courant de l'année.

En 1926, toujours d'après les renseignements obtenus, les pluies de printemps furent encore abondantes et les eaux stagnantes nombreuses. Nous voyons d'abord l'index un peu moins élevé en avril (15,8); mais il se relève rapidement dès la période de multiplication intense des moustiques; il atteint en mai le chiffre élevé de 16,8, pour décroître un peu dans les mois chauds suivants.

Ces observations, faites sur une faune provenant d'une région où l'équilibre hydrologique est encore instable, contrastent donc singulièrement avec celles que nous avons pu faire dans un pays où le système des eaux stagnantes est remarquablement régularisé, comme le grand marais vendéen. Nous voyons nettement que l'index maxillaire épouse étroitement les variations des conditions hydrologiques qui conditionnent la densité faunique. Il en est le reflet fidèle.

Il faut en conclure que dans une région marécageuse où les surfaces stagnantes ne sont pas immobilisées par un travail approprié du terrain, mais subissent directement le contre-coup des variations pluviométriques saisonnières, on doit s'attendre à observer une fluctuation importante des index

maxillaires, d'une année, ou même d'une saison à l'autre; ce sera la conséquence du jeu plus ou moins accusé de la sélection sur des faunes d'anophèles rendues plus ou moins denses par les variations des nappes stagnantes productrices.

Des races zoophiles ainsi caractérisées par les fluctuations de leur index maxillaire peuvent être définies comme *racés zoophiles instables*, par opposition aux *racés zoophiles stables* que nous observons dans des régions où la perfection du système de régularisation hydrologique et d'assèchement des terres est réelle. Dans de telles régions, où l'étendue des nappes d'eau ne subit plus de variations importantes, l'index maxillaire des moustiques apparaît sensiblement fixé.

Ces considérations n'ont pas seulement un intérêt théorique. Il convient de leur accorder une valeur réelle au point de vue antipaludique. La question de la variabilité ou non de l'index maxillaire ne doit pas en effet se juger du seul point de vue morphologique. Il nous apparaît bien, en effet, que si l'instabilité de l'armement maxillaire des moustiques reflète l'imperfection du régime hydrologique local, elle reflète également aussi l'imperfection de l'évolution zoophile anophélienne, et inversement. Nous sommes porté à croire que les races zoophiles instables dont nous parlons ici sont également caractérisées par des préférences zootropes moins accentuées que celles des races zoophiles stables. Les variations incessantes qui surviennent dans le milieu où elles sont appelées à évoluer ne semblent pas permettre une sélection aussi poussée de leurs affinités trophiques pour les hôtes animaux environnants que celles que l'on constate chez les anophèles des régions bien stabilisées.

On peut noter, en effet, que les anophèles des régions instabilisées hydrologiquement attaquent l'homme assez franchement, et, de mes observations personnelles, je n'hésite pas à conclure que des différences réelles apparaissent à ce point de vue entre ces races et celles des régions définitivement stabilisées.

J'ai indiqué plus haut combien l'indifférence par rapport à l'homme était marquée, pour les anophèles du marais vendéen, placés dans leurs conditions de biologie normale. J'ai pu observer, au cours de cet été, une autre race anophélienne de Vendée, extérieure au grand marais, et dont je reparlerai plus longuement comme type de race héréditairement instable.

Cette race, dont les lieux de développement sont constitués par les nappes stagnantes incertaines comprises entre les marais salants de l'estuaire de la Vie et la mer, est aussi, comme nous le verrons plus loin, une race zoophile instable. Or, elle attaque l'homme d'une façon franche, généralement après un certain temps de latence d'une durée de dix à douze heures nocturnes; quelquefois même, ses attaques dans les habitations sont immédiates, dès la tombée de la nuit; ce sont là des différences appréciables avec le comportement habituel de la race du Marais.

Les anophèles de la région instabilisée de Marmorta, dont nous avons parlé plus haut, attaquent aussi l'homme d'une façon assez franche, d'après les renseignements qui m'ont été communiqués par M. Franchini, et la région en question, insuffisamment protégée par son bétail déviateur, est encore assez fortement affectée par l'endémie palustre. Des cas de tierce y sont encore constatés de temps à autre par le D^r Braggaglia. Nous sommes donc fondé à penser que l'instabilité hydrologique ne permet pas d'obtenir, de la présence d'animaux protecteurs, le maximum de pouvoir déviateur utile, parce que les anophèles locaux ne peuvent sélectionner qu'incomplètement leurs affinités zoophiles.

Il n'est pas inutile de répéter, à ce propos, que l'appréciation des affinités, zoophiles ou non, d'une faune d'anophèles ne peut résulter que d'observations faites sur le terrain, dans les conditions absolument strictes de l'existence locale des moustiques. Toutes les expériences réalisées à ce sujet par un certain nombre d'auteurs, expériences qui ont été renouvelées récemment par les auteurs hollandais, avec des moustiques maintenus en captivité, même dans des cages de vastes dimensions, ne sauraient rien exprimer. Les réactions biologiques des moustiques nous apparaissent réglées avec une délicatesse telle que des modifications en apparence légères, dans leurs conditions de vie courante, les faussent d'une façon certaine. Ceci est vrai non seulement pour ce qui concerne les habitudes tropiques des adultes, mais aussi pour celles des larves; c'est la raison pour laquelle nous recommandons toujours d'expérimenter les poudres larvicides (trioxyméthylène, orpiment, stoxal, etc.), non pas au laboratoire, mais *dans la nature*. Il en sera de même, à plus

forte raison, pour l'observation des habitudes d'attaque des anophèles, soit à l'égard de l'homme, soit à l'égard des animaux.

Les observations faites, à ce sujet, dans la nature par Grassi (1922), à Schito; par N. Léon (1923), en Roumanie, par G. Zotta (1927) dans le delta du Danube et la vallée du Prut; tout récemment aussi et d'une façon particulièrement étudiée par A. Missiroli et L. W. Hackett (1927), dans diverses localités italiennes, observations faites, comme les nôtres, dans les conditions strictement naturelles, confirment bien les différences dans l'attraction spontanée exercée par l'homme ou le bétail sur les anophèles des différentes régions, et sont parfaitement démonstratives. Elles le sont beaucoup plus que celles de C. G. Bull et F. M. Root aux États-Unis (1923-24), ou celles des autres auteurs qui ont tenté d'observer les préférences alimentaires des anophèles dans des cages ou des locaux d'examen artificiels.

STABILITÉ HÉRÉDITAIRE DE L'INDEX MAXILLAIRE DANS LES RACES ZOOPHILES STABLES. — La stabilité remarquable de l'index maxillaire, que nous avons constatée chez les anophèles de régions hydrologiquement stabilisées, en accord avec des préférences définitivement marquées pour les animaux, conduit à penser que ces races d'anophèles ont fixé héréditairement leurs aptitudes zoophiles en même temps que les caractères de différenciation relative de leur armature maxillaire. Puisque cette dernière, en particulier, ne subit plus de modifications sensibles, il y a lieu de soumettre à l'expérience la fixité de cette évolution de l'index dans la descendance, et d'apprécier ainsi s'il est vraiment légitime de parler de races zoophiles stabilisées.

Étude expérimentale de l'index maxillaire dans la descendance des moustiques. — Afin de vérifier cette hypothèse j'ai étudié la descendance d'un certain nombre de femelles capturées à différentes années dans le marais vendéen. La ponte de chaque femelle a été soigneusement sélectionnée au laboratoire et mise en élevage jusqu'à l'obtention des adultes. Ceux-ci obtenus, les femelles étaient mises à part et leur index maxillaire étudié, comparé à celui de la mère et à l'index courant de la faune originelle.

Ces élevages ont eu lieu à des températures diverses et

dans des conditions de salinité variées. J'ai également tenté, ce qui jusqu'ici n'avait pu être encore réalisé, de suivre la destinée de l'armature maxillaire dans des générations diverses de moustiques d'élevage, en partant d'une femelle-mère d'armature maxillaire connue.

L'expérience a été poussée, dans un cas, jusqu'à la troisième génération obtenue en captivité.

Les résultats de ces différentes expériences sont exposés ci après. L'index maxillaire est désigné par le symbole I. M.

EXPÉRIENCE I. — Femelle-mère capturée dans la nature en 1923. I. M. = 16,5. On pratique l'élevage de la descendance à 20° C. en eau douce. Nourriture : poudre de *Protococcus*.

12 femelles-filles obtenues dont l'I. M. global = 15,8

On note :

2 individus à 14 dents.

2 individus à 15,5 dents.

4 individus à 16 dents.

2 individus à 16,5 dents.

2 individus à 17 dents.

Dans cette expérience 8 femelles sur 12 (66 p. 100) ont une armature maxillaire identique à celle de la mère ou très voisine de celle-ci (de 16 à 17).

L'index global des 12 individus examinés est conforme à l'index de la faune régionale naturelle.

EXPÉRIENCE II. — Femelle hivernante capturée dans la nature en 1915. On pratique l'élevage de sa descendance en eau douce, à deux conditions de température : un lot à 25-28° C., un lot à 14-18° C.

A. Lot à 25-28° C. : 12 femelles-filles obtenues dont l'I. M. global = 15,2.

On note :

2 individus à 14 dents.

6 individus à 15 dents.

2 individus à 16 dents.

2 individus à 16,5 dents.

B. Lot à 14-18° C. : 6 femelles-filles obtenues dont l'I. M. global = 15,8.

On note :

2 individus à 15,5 dents.

4 individus à 16 dents.

Pour l'ensemble des 18 descendants, dans les deux élevages, l'I. M. global = 15,4, *il est conforme à l'I. M. de la faune régionale naturelle*. L'index maxillaire de la mère n'ayant pas été relevé, la comparaison n'a pu être faite avec le progéniteur immédiat.

EXPÉRIENCE III. — Femelle de première génération née au laboratoire de la femelle mère de l'expérience précédente; I. M. = 15. La descendance de cette femelle (deuxième génération d'élevage en captivité) est élevée en eau douce, en deux lots, l'un à 20-25° C., l'autre à 14-18° C.

A. Lot à 25° C. Les individus issus de ce lot sont chétifs et mal venus. Quatre seulement, malgré leur faible développement, sont cependant retenus pour l'examen.

On note :

2 individus à 14 dents maxillaires,

2 individus à 15 dents maxillaires.

B. Lot à 14-18° C. 8 femelles descendantes examinées. L'I. M. global de ces 8 individus = 15,5 donc *conforme à celui des conditions naturelles*.

On note :

4 individus à 15 dents maxillaires.

2 individus à 15,5 dents maxillaires.

2 individus à 16,5 dents maxillaires.

Dans cette expérience, 8 femelles sur 12 (66 p. 100), quoique provenant d'une deuxième génération d'élevage en captivité, ont manifesté une armature maxillaire identique à celle de la mère ou très voisine de celle-ci. L'index global des 12 individus examinés (15,1) est rendu un peu inférieur à celui des conditions naturelles par le mauvais état de développement des individus nés à l'étuve, qui ont légèrement faussé le résultat général. Le lot B., à développement normal, a donné un I. M. *conforme à celui des conditions naturelles, malgré deux générations d'élevage en captivité*.

EXPÉRIENCE IV. — Femelle de première génération née au laboratoire de la femelle mère de l'expérience II. — I. M. = 15. La descendance de cette femelle (deuxième génération d'élevage en captivité) est élevée en eau saumâtre à 15-18° C.

6 femelles-filles examinées donnent un index global de : 15,8.

On note :

4 individus à 15 dents maxillaires,

2 individus à 17,5 dents maxillaires.

Dans cette expérience, 4 femelles sur 6 examinées (66,6 p. 100) ont une armature maxillaire identique à celle de la mère. Les conditions de salure des eaux n'ont modifié en rien le développement maxillaire et l'index global des individus examinés *est resté conforme à celui de la faune originelle, malgré deux générations d'élevage en captivité*.

EXPÉRIENCE V. — Femelle de deuxième génération née au laboratoire. I. M. = 15,5. Cette femelle donne une descendance de troisième génération en captivité qui est élevée en eau douce.

Un premier lot à 20-25° C. donne, pour 3 femelles examinées :

- 1 individu à 13 dents maxillaires,
- 1 individu à 14,5 dents maxillaires,
- 1 individu à 16,5 dents maxillaires.

Un deuxième lot à 15-18° C. donne pour 4 femelles examinées :

- 1 individu à 13,5 dents maxillaires,
- 1 individu à 14 dents maxillaires,
- 2 individus à 15 et 15,5 dents maxillaires.

Dans cette expérience, 3 femelles sur 7 ont présenté une armature maxillaire identique à celle de la mère ou voisine de celle-ci (15,5); mais l'index global des 7 individus examinés n'est que de 14,5, c'est-à-dire nettement inférieur à l'index de la faune originelle.

C'est seulement dans cette dernière expérience, après trois générations d'élevage en captivité, que nous voyons l'index maxillaire des femelles descendantes tendre à s'écarter sensiblement de l'index de la faune naturelle. Or il faut faire remarquer que les moustiques obtenus au cours de cet élevage de troisième génération étaient pour la plupart non viables, inaptes à se nourrir de sang; deux d'entre eux seulement qui purent être gorgés et conservés en vie pendant quelque temps ne donnèrent pas de descendance. Nous sommes donc en droit de penser que cette dégénérescence de l'armature maxillaire, manifestée par la décroissance de l'index, n'a été que l'expression de la dégénérescence générale des individus, conséquence directe des conditions défectueuses de la captivité, comme nous l'avions déjà constaté plus haut, pour la première partie de l'expérience III (1).

Cette éducation en série des anophèles, par générations successives strictement sélectionnées et suivies au laboratoire, est d'ailleurs très délicate à obtenir. Les expériences tentées ici sont les premières à ma connaissance qui aient pu être réalisées

(1) Une nouvelle expérience réalisée tout récemment nous confirme dans cette manière de voir. La descendance larvaire de deux femelles naturelles ayant été élevée dans des conditions insuffisantes de température pour les trois stades initiaux, le développement de ces larves a nécessité une durée exceptionnelle de près de deux mois. Les quelques images qui furent obtenues à la suite d'une reprise de la température favorable (20° C.) au dernier stade évolutif ont montré un index maxillaire global de 14,5, inférieur à la normale. Or ces individus, quoique en apparence normaux, se sont toujours refusés à la nourriture sanguine, indice de conditions physiologiques anormales.

dans cet ordre d'idées et l'intérêt des résultats qu'elles expriment, malgré le nombre peu élevé des individus obtenus, n'est pas niable.

Si nous éliminons, en effet, dans l'appréciation générale de nos résultats, cette dernière expérience qui a été manifestement faussée par les mauvaises conditions d'un élevage prolongé en captivité, nous voyons que, dans toutes les autres expériences, le nombre des individus dont la formule maxillaire s'est montrée sensiblement conforme, à une demi-dent près, à celle de leur

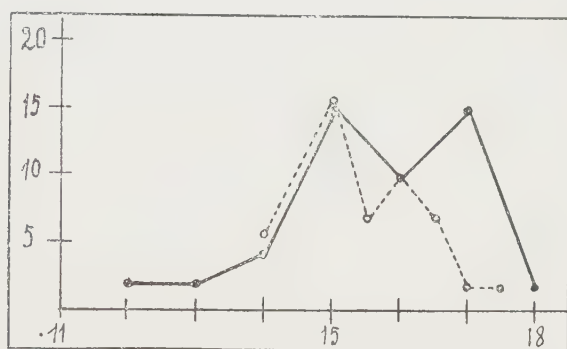


FIG. 15. — Graphiques comparés de numération des armatures maxillaires, pour la faune globale naturelle du marais vendéen (trait plein) et pour l'ensemble de la descendance obtenue des élevages artificiels (trait pointillé) de mères à 15-16,5 dents originaires de cette faune.

On notera la superposition étroite des tracés dans la partie de la courbe correspondant aux types dentaires dominants de 15-16 dents. (Verticalement les nombres des moustiques, horizontalement les dents maxillaires.)

progéniteur l'emporte nettement (66 p. 100) sur celui des individus qui s'en écartent de plus de 0,5 de dent.

Si maintenant on établit l'index maxillaire global de toutes les femelles examinées au cours de nos diverses expériences d'élevage, de l'expérience I à IV (V étant éliminée), on voit que pour 48 femelles, provenant de ces élevages divers, l'index maxillaire global = 15,5, c'est-à-dire qu'il est conforme à l'index régional naturel de la faune originelle.

Ainsi, au cours d'expériences séparées par deux années d'intervalle, et dans lesquelles deux générations successives de moustiques issues de la même femelle ont pu intervenir, on voit que, malgré les conditions plus ou moins défectueuses de

la captivité, l'état moyen de l'armement maxillaire de nos moustiques n'a pas sensiblement varié (fig. 15). On est donc en droit d'affirmer que, dans des conditions de développement larvaires sensiblement normales, l'index maxillaire des anophèles du marais vendéen est stabilisé dans la descendance et qu'il s'agit là d'une propriété *de race*. Il faut entendre ici que si des variations *individuelles* dans la richesse de l'armement maxillaire restent possibles, pour les individus issus d'une même femelle, l'étendue et l'importance de ces variations sont cependant assez faibles pour ne pas se traduire d'une manière appréciable dans les moyennes (1). Il est donc bien permis de parler ici d'une stabilité héréditaire de l'index, qui confirme la stabilité observée dans les conditions naturelles comme conséquence même de la stabilité hydrologique. Le graphique de la figure 15 qui montre en ligne pointillée les caractères comparés de l'armement maxillaire pour nos individus d'élevage, par rapport à la faune originelle (en trait plein), fait bien ressortir la conservation héréditaire chez la descendance des caractères généraux de la faune-mère. La seule discordance réelle existant entre les deux tracés réside dans la disparition, pour le tracé de nos descendants d'expériences, de la courbe de prédominance des formes à 17 dents. Ceci tient sans doute à ce que ces formes n'étaient pas représentées parmi les souches de notre élevage expérimental, dont l'index individuel oscillait entre 15 et 16,5. Les formes à forte dentition sont d'ailleurs trop peu nombreuses, dans la faune naturelle, pour influencer sur l'élévation de l'index global. Il résulte nettement de la superposition des tracés de la figure 15 que la constitution de l'armement maxillaire dans la faune naturelle, comme dans la faune artificielle descendante, est sensiblement du même type.

INSTABILITÉ HÉRÉDITAIRE DE L'INDEX MAXILLAIRE CHEZ LES RACES ZOOPHILES INSTABLES. — Si maintenant nous étudions compara-

(1) La proportion toujours élevée des individus ayant une dentition identique à celle de la mère, en ce qui concerne le nombre des dents, montre bien qu'il s'agit d'un caractère héréditaire. Mais j'ai pu reconnaître, au cours de ces expériences, que les particularités individuelles plus spéciales de l'armature maternelle, comme la présence de denticules multiples malformés ou de dents anormales extérieures à la scie, ne sont pas fidèlement représentées dans la descendance.

tivement, de la même manière que ci-dessus, l'index maxillaire dans la descendance de moustiques provenant de régions hydrologiquement non stabilisées, nous constatons, dans l'instabilité même de cet index, une confirmation qui renforce encore nos conclusions.

J'ai étudié en Vendée, dans la région côtière (Croix-de-Vie), une race anophélienne zoophile instable dont j'ai déjà parlé plus haut et qui offre le grand intérêt de se trouver localisée à peu de distance de la race zoophile stabilisée du grand marais, tout en se maintenant distincte de celle-ci. Morphologiquement il n'y a point de différences appréciables dans les deux types d'anophèles, celui du marais et celui de la région en question. Bien que nous n'ayons pas réalisé de mesurations strictes des individus dans les deux zones, il ne nous a point été possible de discerner entre eux des dissemblances apparentes, comme les auteurs hollandais se sont efforcés d'en relever pour leurs anophèles de grande et de petite taille des Pays-Bas. Les variations de taille sont indifférentes dans le point de vue qui nous occupe; il est bien entendu qu'elles dépendent uniquement des conditions d'alimentation larvaire et que tous les facteurs capables d'influencer celle-ci (abondance et nature de la nourriture superficielle, densité des larves, variations d'étendue de la surface, etc.), régissent les dimensions des adultes.

Les différences relevées dans nos deux types anophéliens de Vendée sont d'un autre ordre. Elles portent d'abord sur les données globales de l'index maxillaire. Les femelles capturées cet été dans la région de Croix-de-Vie ont présenté un index global nettement supérieur à celui des anophèles de la région du grand marais. J'ai relevé une moyenne de 16,6, pour 60 femelles capturées dans les habitations et écuries. C'est là une moyenne élevée, même pour une faune européenne zoophile.

Or cette race anophélienne littorale manifeste également des aptitudes pour l'attaque humaine plus franches que la race observée au marais. Pendant les mois de juillet à fin septembre, j'ai pu constater presque journellement, et sur moi-même, que ces anophèles introduits dans les maisons piquaient franchement, de préférence à l'aube, après un séjour d'une nuit dans

une pièce habitée; ils attaquaient même, mais plus rarement cependant, dès le début de la nuit.

Cette race locale littorale se développe dans les petites collections d'eau douce plus ou moins permanentes, mais essentiellement instables, qui se rencontrent entre les marais salants de l'embouchure de la Vie et la mer : fossés de route, chemins creux et bas-fonds marécageux, mares servant à abreuver le bétail, trous d'eau résultant d'extraction de sable ou de matériaux de constructions. Toutes ces diverses surfaces d'eau procèdent d'une régulation hydrologique essentiellement imparfaite et précaire. Au cours des étés chauds et secs, la plupart de ces gîtes disparaissent et l'eau ne subsiste plus guère que dans le fond de certaines mares, qui deviennent boueuses et impropres à la vie anophélienne. Dans les étés pluvieux, comme celui de l'année 1927, on rencontre, au contraire, de l'eau dans toutes les dépressions naturelles ou artificielles et le développement anophélien est rendu possible dans nombre de gîtes habituellement asséchés en période estivale.

Comme conséquence de cette permanence d'un grand nombre de nappes stagnantes, j'ai pu observer cette même année des femelles d'anophèles envahissant les habitations, et piquant l'homme en abondance beaucoup plus grande qu'au cours de quatre années d'observations antérieures. Il convient, d'ailleurs, de noter que si ces anophèles attaquent également volontiers les animaux, ceux-ci sont relativement plus rares et plus dispersés dans cette zone littorale que dans le marais vendéen.

Il était intéressant, après avoir constaté que l'index maxillaire de cette faunule locale n'était pas le même que celui de la grande faune du marais, de rechercher si cet index était héréditairement stabilisé ou non. L'expérience ci-après fournit une réponse très nette à cette question.

EXPÉRIENCE. — Une femelle capturée dans une habitation, à Croix-de-Vie, pond le 14 novembre. Sa descendance est élevée, dans de bonnes conditions alimentaires et thermiques à 20° C. de moyenne. L'évolution est rapide, normale et les éclosions des individus-filles commencent à apparaître au bout de trois semaines environ. La femelle-mère, examinée après la ponte, montre 18 dents maxillaires de chaque côté.

L'examen de 50 femelles-filles ne montre que deux individus de même armature maxillaire que la mère (soit 4 p. 100 seulement). Tous les autres individus s'échelonnent, au point de vue de la puissance relative de leur scie maxillaire, entre un minimum de 14 et le maximum observé de 18. L'index correspondant aux 50 représentants étudiés ne dépasse pas 15,7, contre 16,6 pour la faune originelle.

Cette expérience ne permet donc pas de dire, comme pour la faune stabilisée du grand marais, que la différenciation maxil-

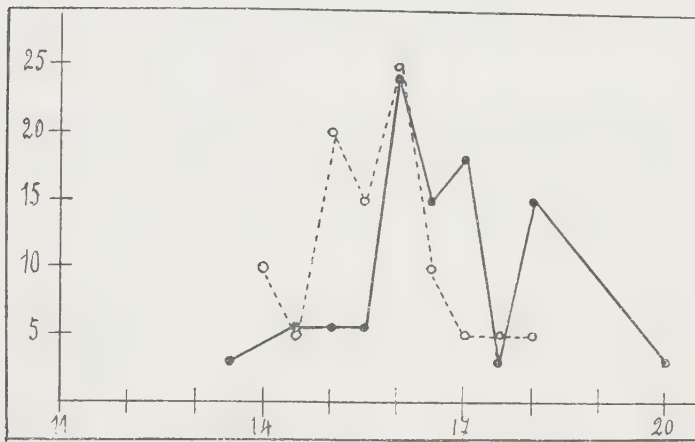


FIG. 16. — Instabilité héréditaire de l'armement maxillaire dans la faunule littorale originaire de petites surfaces d'eau instables (Croix-de-Vie).

En trait plein, graphique de numération des armatures maxillaires pour la faune naturelle (1927). En pointillé, graphique correspondant à 50 individus d'élevage.

laire de cette faunule littorale est stabilisée dans la descendance.

Le graphique 16, qui fait bien ressortir les caractères de l'armement pour la faune originelle (en trait plein) et pour la faune obtenue par descendance d'une femelle (en pointillé), précise qu'il n'y a pas de tendance à une superposition, c'est-à-dire à une similitude réelle de ces deux armements. Les différences avec le graphique 15 que nous avons donné plus haut, pour la faune du grand marais sont manifestes. Le seul point de contact entre le graphique de la faune originelle littorale et celui de la descendance obtenue réside dans la prédominance

nette, dans les deux cas, des individus à 16 dents; mais la puissance dentaire générale est moindre pour les individus d'élevage, quoique provenant d'une mère à 18 dents, que pour la faune originelle. Nous sommes donc bien en droit de penser que cette faune, originaire d'une région soumise à des fluctuations hydrologiques permanentes, n'est pas fixée dans son évolution maxillaire et qu'elle présentera dans ce sens des fluctuations incessantes sur lesquelles pourra s'opérer, dans les différentes années, le jeu de la sélection.

Conclusions générales.

Il nous apparaît résulter des faits que nous venons de passer en revue que l'étude de l'armature maxillaire des faunes d'*A. maculipennis* fournit à notre thèse de l'adaptation zoophile, comme facteur antipalustre essentiel, dans les régions ouvertes à la vie agricole, des arguments d'une puissance incontestable. Le degré d'armement maxillaire d'une faune, exprimé par les index, ne fournit pas seulement des indications sur l'adaptation ou non des moustiques aux animaux domestiques, mais encore est susceptible de traduire le reflet des circonstances hydrologiques régionales, dans la mesure où elles peuvent agir sur la constance relative de cette adaptation.

L'index maxillaire nous renseigne sur les moyens d'attaque des femelles, sur l'existence ou non des races zoophiles, sur leur stabilité et par suite leur degré d'évolution propre; du même coup, il nous fait pressentir la valeur ou l'insuffisance de la protection apportée à l'homme par les animaux qui l'entourent. Ainsi se trouve justifiée l'hypothèse formulée par le savant danois Wessenberg-Lund, qui avait parfaitement entrevu l'importance des maxilles comme organes susceptibles d'être influencés, en premier lieu, par les conditions de nutrition sanguine des femelles d'anophèles. Ces organes jouent, non pas tant dans l'existence même des femelles que dans l'avenir de leur descendance, un rôle tel qu'ils supportent immédiatement, selon nous, le poids des influences sélectionnantes, dans la mesure où elles sont liées à la concurrence des individus, et les reflètent.

L'un des faits les plus curieux et les plus suggestifs qui se

dégagent des recherches exposées dans ce travail réside dans la mise en évidence, par la seule étude de l'armature maxillaire, de races de moustiques biologiquement différentes dans un territoire restreint d'une même région. La constatation des différences relevées, au point de vue de l'armement maxillaire et de sa stabilité relative, entre les anophèles du grand marais de Vendée et ceux de la région littorale limitrophe, a été pour moi, je dois le dire, complètement inattendue.

Si, au point de vue régional, le marais vendéen, ancienne région basse toujours humide, conquise sur la mer, s'individualise nettement par rapport aux territoires environnants, en fait, aucun obstacle géographique ou physique ne sépare nettement les deux régions envisagées. La zone littorale où furent prélevés les anophèles de notre faunule instable n'est guère distante, à vol d'oiseau, de plus de 4 kilomètres de la région du grand marais. Le réseau des fossés de route et des chemins creux, qui entretient librement la petite faune anophélienne littorale dont nous parlons ici, semble poursuivre directement, dans les vieilles terres d'assises rocheuses qui bordent la mer, le jacis régulier des canaux de la zone basse du marais breton. Ni cordon forestier, ni collines ou soulèvements importants ne viennent s'opposer au libre mélange des anophèles, à leur passage d'une zone à l'autre. Or, nous constatons que dans la zone basse du marais vit une population d'anophèles, stabilisée remarquablement dans ses habitudes zoophiles, qui a acquis et qui conserve héréditairement des caractères de différenciation maxillaire que nous ne retrouvons pas dans la population anophélienne limitrophe. Il n'y a donc pas de mélange constant entre les deux types.

Il faut en conclure que nos anophèles régionaux sont moins aptes à se disperser dans l'étendue d'un pays qu'on ne le suppose; qu'ils tendent vraiment à se sédentariser, en uniformisant localement leurs conditions de vie, lorsqu'ils en ont la possibilité; attachés à l'ambiance qui les a vus naître, ils peuvent constituer des peuplements locaux ayant bien un caractère de race, en s'adaptant à des gîtes spéciaux.

Les recherches récentes des auteurs hollandais qui mettent en évidence, dans la région des Pays-bas, l'existence de deux types différents d'*A. maculipennis*, différenciés par leurs

dimensions, leur couleur, comme par leurs particularités d'hibernation, plaident dans le même sens. Je pense qu'il faut cependant aller plus loin encore dans cette voie et que l'étude systématique de l'index maxillaire, poursuivie dans le sens et de la manière que j'ai indiquée, révélera, parmi les faunes régionales de l'anophèle qui nous occupe, bien d'autres différences locales dont il y a lieu de tenir compte.

Les faits que nous avons développés dans ce travail montrent donc que l'*A. maculipennis* tend à s'adapter étroitement à certaines circonstances essentielles pour lui et qui varient suivant le milieu géographique où il est placé : circonstances de nutrition sanguine et circonstances hydrologiques. Nous avons vu que les unes comme les autres reflètent plus ou moins directement leur influence sur le développement moyen de l'armature maxillaire, et sur sa stabilité relative.

Dans l'ensemble, il est permis de considérer que le point de vue dominant, dans la question qui nous occupe de l'avènement des races zoophiles, est bien la tendance à une *domestication* de plus en plus étroite du moustique en cause. Tous les phénomènes qui gravitent autour de l'évolution du zoophilisme de l'anophèle en Europe ne sont que l'expression ou le résultat biologique d'une des plus vastes expériences de domestication d'un organisme qui aient été réalisées par l'homme, mais, à vrai dire, à son insu. L'adaptation zoophile, dont nous pouvons relever la réalité et le perfectionnement relatif, par l'étude de l'index maxillaire, doit nous apparaître comme la conséquence des améliorations apportées, simultanément, à l'existence humaine et à celles du moustique, par l'effort de l'homme sur la nature primitive environnante. Cette adaptation n'est solide et complète qu'autant que la nature elle-même aura été suffisamment régularisée au préalable, dans ses divagations hydrologiques, par l'effort humain. C'est de la « domestication » initiale du système des eaux libres et sauvages primitives que dépend en grande partie celle de l'anophèle, avec ses conséquences indirectes antipalustres.

L'assainissement définitif des régions malsaines n'est pas simplement tributaire d'une réduction des surfaces d'eaux productives de larves, par le drainage ou le travail approprié du

terrain. Il ne l'est pas davantage de la seule introduction du bétail favorable à la déviation anophélienne. C'est la combinaison de ces deux facteurs, se complétant l'un par l'autre, qui, selon nous, doit être envisagée, parce qu'elle seule permet l'avènement d'habitudes zoophiles régulières garantissant au maximum la sécurité humaine. Or, l'expression générale des phénomènes envisagés qui caractérisent l'assainissement agricole, la « bonification agraire » des auteurs italiens, est bien, en définitive, *l'amélioration des conditions de vie de l'anophèle*.

Nous sommes amené à concevoir, comme terme de cette étude, que l'homme en améliorant sa vie propre par son action persévérante sur la nature environnante ne travaille pas seulement pour lui-même, mais aussi, indirectement, pour les moustiques qui l'entourent. En stabilisant le régime brutal des surfaces inondées, il arrache du même coup ces insectes aux vicissitudes d'un développement essentiellement irrégulier, tantôt trop abondant, tantôt précaire; aux incertitudes de la vie sauvage, il fait succéder la régularité plus favorable d'un développement uniformisé dans son ampleur, ses conditions alimentaires, sa localisation. En perfectionnant, d'autre part, avec la stabulation bien comprise, l'hygiène et le bien-être de son bétail, il permet indirectement à cette faune d'anophèles qui, primitivement, se nourrissait mal, sur des hôtes de fortune et principalement sur lui-même, une alimentation riche, facile et sûre. Cet ensemble d'influences, qui favorisent leur vie en la régularisant, acquiert les moustiques à la vie domestique; ils peuvent désormais uniformiser leurs habitudes de vie et de régime en les spécialisant de plus en plus étroitement dans le sens d'une exploitation meilleure des ressources merveilleuses qui leur sont offertes. La zoophilie s'accuse et se perfectionne parallèlement à l'amélioration même de l'existence, à la fois de l'homme, du bétail et des moustiques.

*
*
*

Au total, si le problème de l'assainissement spontané des régions palustres ouvertes à la mise en valeur rationnelle se ramène à une question de bien-être et d'hygiène meilleure, il nous faut bien reconnaître que, dans cette question, le point de

vue humain ne représente pas l'élément dominant. Les trois peuplements solidaires : animaux, moustiques et hommes participent chacun pour leur part à ces améliorations de l'existence générale. Et il apparaît bien, des recherches qui ont été exposées, que la régression palustre a été beaucoup plus directement la conséquence du bien-être apporté aux deux premiers qu'à un conditionnement meilleur de l'habitat et du régime pour le troisième.

Si nous voulons résumer en quelques mots les conclusions générales qui se dégagent de nos études, nous dirons donc que la protection humaine antipalustre trouvera, dans le pouvoir déviateur des animaux domestiques, des garanties certaines, mais principalement si les conditions essentielles qui président à l'avènement d'une zoophilie stable, chez les anophèles locaux, sont remplies.

Ces conditions essentielles, qui règlent ce que j'ai appelé l'équilibre zootropique d'une faune d'anophèles, sont essentiellement dérivées de la stabilisation des surfaces d'eau. Sans cette action régularisante fondamentale, l'action déviatrice animale ne pourra s'exercer que d'une manière incomplète. Nous n'en connaissons que le premier terme, celui qui dépend de l'organisation en barrages ou écrans protecteurs, des abris à bestiaux, interposés entre les habitations humaines et les gîtes de développement des moustiques. L'efficacité réelle et durable de la déviation animale, qui dérive de la sélection réelle des préférences zoophiles, développées chez les moustiques par l'avènement d'une vie domestique stable, ne s'affirmera qu'à la faveur des grandes mesures de régulation hydrologiques, celles qui traduisent définitivement la conquête de l'homme sur la nature physique.

TRAVAUX CITÉS

- E. BRUMPT. Les anophèles de Corse. *Bull. Acad. Méd.* **94**, 21 juillet 1925, p. 811.
 C. G. BULL et M. ROOT, Preferential feeding Experiments with Anopheline Mosquitoes. *Amer. Jl. Hyg.*, **3**, sept. 1923, p. 544.
 C. G. BULL et R. D. REYNOLDS, Preferential feeding Experiments with Anopheline Mosquitoes II. *Ibid.*, **4**, mars 1924, p. 109.
 A. DE BUCK, De variatie bij *Anopheles maculipennis* in verband met het « Anophelisme zonder Malaria ». *Thèse*, Amsterdam, 1926.

- A. DE BUCK, E. SCHOUTE et N. H. SWELLENGREBEL, *Aver. Anophelisme zonder Malaria in de omgeving van Amsterdam. Kon. Acad. van Wetensch., Amsterdam*, **35**, 1926; *Recherches sur l'anophélisme sans paludisme aux environs d'Amsterdam. Riv. Malar.*, **4**, n° 1, 1927.
- B. GRASSI, *Nuovo Orizzonte nella lotta antimalarica. Riv. di Biol.*, **3**, n° 4, 12 août 1921; *Ancora sulle preferenze degli anofeli; consequence epidemiologiche. Rend. R. Acc. Lincei*, **31**, 1922, p. 535.
- J. LEGENDRE, *La zoophilie chez les moustiques et son application à la prophylaxie. C. R. Acad. des Sciences*, **181**, 1923, **184**, 1924; *La lutte contre les moustiques par la concurrence entre zoophiles et androphiles. C. R. Acad. des Sciences*, **185**, 1927, p. 1520.
- N. LÉON, *Contribution à l'étude des Culicides de Roumanie. Centr. Bakt. Orig.*, **53**, 1910; *Sur l'anophélisme et le paludisme en Roumanie. Lab. Paras. Fac. Med. Jassy*, 1923.
- E. MARTINI, *Kritische Bemerkungen zur Theorie der « misanthropen oder zoophilen » Anophelen. Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg.*, **26**, 1922; *Ueber jugoslawische Anophelen mit besonderer Berücksichtigung der Frage der misanthropen Rassen. Arch. f. Schiffs. u. Trop. Hyg.*, **28**, 1926; *Ueber Anopheles Zucht (mit einigen Anopheles-Beobachtungen). Centralbl. Bakt. I Orig.*, **94**, 1925.
- A. MISSIROLI et L. W. HACKETT, *La Regressione spontanea della Malaria in alcune regioni d'Italia. Riv. di Malariol.*, **6**, 2, 1927.
- E. ROUBAUD, *Rythmes physiologiques et vol spontané, chez l'A. maculipennis. C. R. Acad. des Sciences*, **167**, 1918; *Antagonisme du bétail et de l'homme dans la nutrition sanguine de l'A. maculipennis. C. R. Acad. des Sciences*, **169**, 8 septembre 1919, p. 483; *Les conditions de nutrition des anophèles en France et le rôle du bétail dans la prophylaxie du paludisme. Ces Annales*, **34**, avril 1920, p. 181-228; *La différenciation des races zootropiques d'anophèles et la régression spontanée du paludisme. Bull. Soc. Path. exot.*, **14**, n° 9, novembre 1921; *A propos des races zoophiles d'anophèles. Ibid.*, **15**, 1922, p. 36; *Les désharmonies de la fonction rénale et leurs conséquences biologiques chez les moustiques. Ces Annales*, **37**, juillet 1923, p. 677; *Sur les conditions physiologiques du zootropisme chez les moustiques. C. R. Acad. des Sciences*, **177**, 19 novembre 1923, p. 1060; *Les principes directeurs de la prophylaxie pratique du paludisme. Bull. Soc. Path. exot.*, **18**, février 1923, p. 199; *Les raisons de l'absence en Europe septentrionale de l'endémie palustre estivo-automnale. Ibid.*, mars 1923, p. 279; *Peuplements humains et peuplements animaux comme facteurs économiques comparés de la déviation anophélienne antipalustre. Ibid.*, novembre 1923, p. 723.
- E. ROUBAUD et M. LEGER, *Observations sur le paludisme en Corse. Bull. Soc. Path. exot.*, **14**, n° 6, 8 juin 1921.
- E. et Et. SERGENT, PARROT et FOLEY, *L'armature maxillaire des Anopheles maculipennis en pays paludéen. Ibid.*, **15**, janvier 1922, p. 29.
- Et. SERGENT, *Assainissement naturel d'une localité palustre du Limousin. Arch. I. Pasteur Af. du Nord*, n° 4, 1922, p. 474.
- N. H. SWELLENGREBEL, *Malaria in the kingdom of the Netherlands. Rapport à la Ligue des Nations*, 1924.
- R. C. SHANNON, *Notes on the maxillary Teth of Anopheles. Proc. Ent. Soc. Washington*, **36**, mai 1924, p. 142.

- VAN DER HOEVEN, Uitbreken en verdwijnen van malaria. *Hygh. en v. Diltmar.*, Rotterdam, 1924.
- PH. VAN THIEL, Anopheles en Malaria in Leiden en naaste omgeving. *Thèse*, Leyde, 1922 ; Maxillenzahnzahl und Flugellänge bei *Anopheles maculipennis*. *Arch. f. Sch. trop. Hyg.*, Beih. I, **39**, 1926, p. 67 ; Sur l'origine des variations de taille de l'*Anopheles maculipennis* dans les Pays-Bas. *Bull. Soc. Path. exot.*, **20**, 13 avril 1927, p. 366.
- C. WESENBERG-LUND, Contributions to the Biology of the Danish Culicidae. *D. Kgl. Dansk. Vidensk. se'sk. Skrift. Naturw. og. Math.*, 1921.
- G. ZOTTA, Considérations sur l'anophélisme du Delta du Danube. *Bull. Soc. Path. Exot.*, **20**, 12 octobre 1927, p. 801.

Le Gérant : G. MASSON.

LÉGENDE DE LA PLANCHE III

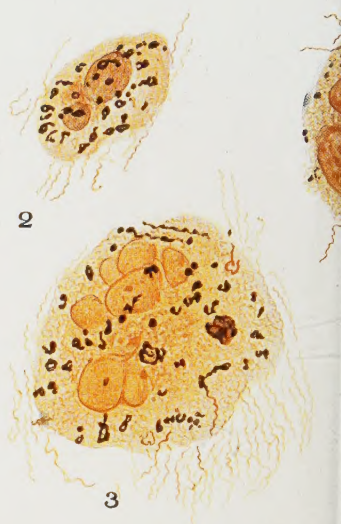
(MÉMOIRE LEVADITI)

- FIGURE 1. — *Lapin 903 N, greffon de ganglion, examiné le quatre-vingtième jour.* Fibroblastes contenant des granulations argentophiles. Tréponèmes libres, ou attachés au cytoplasme de ces fibroblastes. Méthode de Stempel-Armuzzi. Gross. : 1.200/1.
- FIGURES 2, 3 et 4. — *Lapin 373 N, greffon de ganglion, examiné le quarante-septième jour.* Cellules géantes contenant 2, 6 et 7 noyaux. Dans le cytoplasme de ces cellules, des tréponèmes, formes involutives, colorés en noir. Tout autour, des spirochètes typiques teints en marron clair. Même méthode. Gross. : 1.300/1.
- FIGURES 5 et 6. — *Même animal.* Deux très volumineuses cellules géantes, dont le cytoplasme renferme des tréponèmes typiques et quelques formes spirochètiennes involutives, ces dernières teintées en noir. Même méthode. Gross. : 1.300/1.
- FIGURE 7. — *Lapin 347 N, greffon de ganglion, examiné le quarante-septième jour.* Fibroblaste contenant des formes spirochètiennes involutives. Même méthode et même grossissement.
- FIGURE 8. — *Lapin 381 N, greffon de ganglion, examiné le cinquante-troisième jour.* Volumineuse cellule géante contenant 21 noyaux, des tréponèmes typiques et de rares formes involutives. Même méthode, même grossissement.
- FIGURE 9. — *Même lapin.* Petite cellule géante dont le cytoplasme contient de très nombreuses formes spirochètiennes involutives. Même méthode, même grossissement.
- FIGURE 10. — *Lapin 347 N, même légende que la figure 9.*
- FIGURE 11. — *Lapin 748 N, greffon de syphilome Truffi, examiné le vingtième jour.* Espace lymphatique contenant de nombreux macrophages dont quelques-uns renferment des formes spirochètiennes involutives. Riche pullulation tréponémique. Même méthode. Gross. : 1.000/1.
- FIGURE 12. — *Lapin 903 N, greffon de ganglion, examiné le quatre-vingtième jour.* Fibroblastes renfermant des granulations argentophiles. Tréponèmes très allongés à ondulations aplaties. Même méthode. Gross. : 1.200/1.
- FIGURE 13. — *Coupe de ganglion poplité provenant d'un lapin porteur d'un chancre Truffi âgé de cent quarante-huit jours.* Au centre, une forme spirochètienne douteuse. Notre méthode. Gross. : 1.000/1.
- FIGURE 14. — *Lapin 381 N, greffon de ganglion, examiné le cinquante-troisième jour.* La coupe montre une riche pullulation tréponémique à la phase spirochètienne du greffon (à comparer avec la figure 11). Méthode de Stempel-Armuzzi. Gross. : 1.000/1.





1



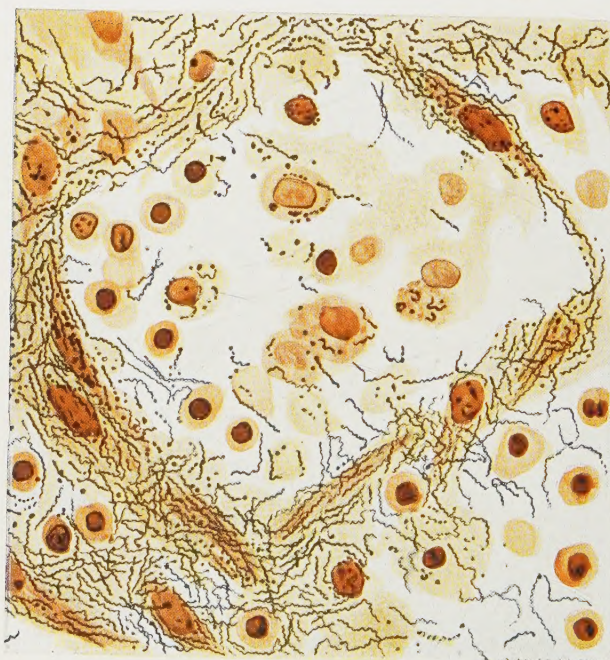
2



3

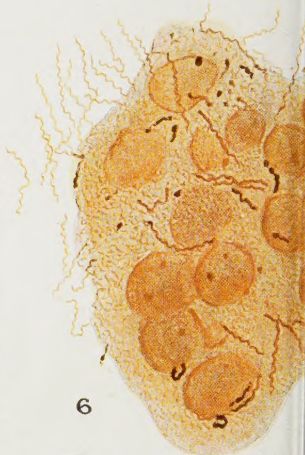


7



11

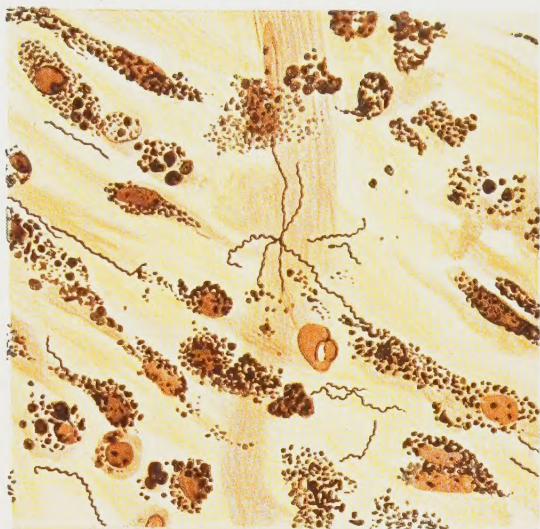
Demoulin, sc.



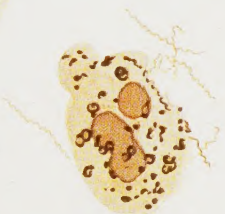
6



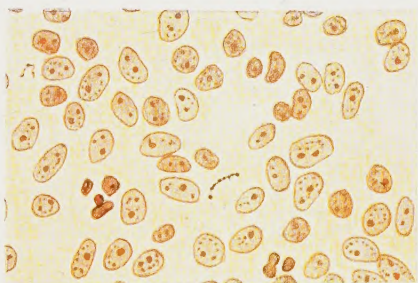
8



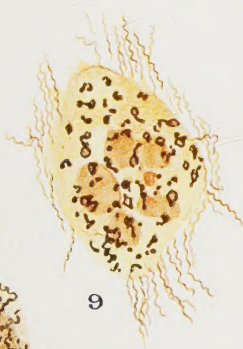
12



10



13



9



14

